

26946 / 4106



SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK POLAR DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) TERHADAP INFEKSI *Aeromonas hydrophila* PADA LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*)

Oleh :

KIKI TAURISTA
NRP. 1502 100 021

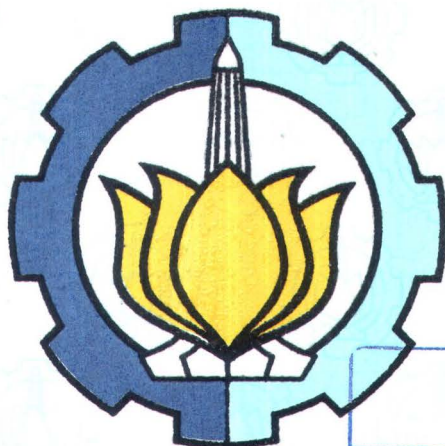
R5B1

579.3

744

4-1

2006



PERPUSTAKAAN
ITS

Tgl. Terima	2-8-06
Terima Dari	H
No. Agenda Prp.	225790

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2006

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK POLAR
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) TERHADAP INFEKSI
Aeromonas hydrophila PADA LELE DUMBO
(*Clarias gariepinus*)**

Oleh :

KIKI TAURISTA
NRP. 1502 100 021

Menyetujui,

Pembimbing I



Awik Puji Dyah N., SSi., MSi.
NIP. 132 206 270

Pembimbing II



Endry Nugroho P., SSi., MT.
NIP. 132 276 190

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dra. Dian Saptarini, MSc.
NIP. 132 010 713

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK POLAR
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) TERHADAP INFEKSI
Aeromonas hydrophila PADA LELE DUMBO
(*Clarias gariepinus*)**

Oleh :

KIKI TAURISTA
NRP. 1502 100 021

Telah diuji pada tanggal 10 Juli 2006, menyetujui :

Penguji I



Tutik Nurhidayati, SSi., MSi.
NIP. 132 206 276

Penguji II



Awik Puji Dyah N., SSi., MSi.
NIP. 132 206 270

Penguji III



Endry Nugroho P., S.Si., MT
NIP. 132 276 190

Penguji IV



Nengah Dwianita K., SSi., MSi
NIP. 132 206 282

Penguji V



Dra. Enny Zulaika, MP.
NIP. 131 773 918

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak polar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun *P. guajava* diekstraksi dengan metode ekstraksi senyawa polar. Penelitian dilakukan dengan dua uji, yaitu uji *in vitro* dan uji *in vivo*. Uji *in vitro* terhadap *A. hydrophila* dilakukan dengan metode difusi cakram pada tiga dosis ekstrak polar daun *Psidium guajava*, yaitu 1, 2, dan 3 g. Infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan *C. gariepinus* dilakukan secara rendaman dengan kepadatan 10^6 CFU/ml. Pengobatan dengan ekstrak polar daun *P. guajava* diberikan satu hari setelah infeksi dengan dosis 10, 20, dan 30 mg/l serta antibiotik tetrasiklin dengan dosis 10 mg/l sebagai pembanding. Pengobatan dilakukan selama 5 hari dan dilakukan pengamatan sampai hari ke - 15 pada tiga parameter penyakit, yaitu ulser (borok) yang berbentuk bulat atau tidak teratur, *hemorrhage* pada sirip, dan pembengkakan abdomen. Uji *in vitro* menunjukkan hasil zona terang dengan diameter tertinggi sebesar 3, 5 mm pada ekstrak polar dosis 3 g. Hasil penelitian uji *in vivo* menunjukkan antibakteri dari ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) dengan dosis 30 mg/l yang diberikan secara rendaman tiap hari sekali selama 5 hari, lebih efektif dalam pengobatan infeksi *A. hydrophila* pada lele dumbo (*C. gariepinus*) dibandingkan ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) dosis 10 dan 20 mg/l dengan waktu penyembuhan 11 hari.

Kata kunci : *Psidium guajava*, *Aeromonas hydrophila*, *Clarias gariepinus*, uji *in vitro*, uji *in vivo*

ABSTRACT

The aim of the research was to study antibacterial activity from guava (*Psidium guajava*) leaves polar extract against infection of *Aeromonas hydrophila* in african catfish (*Clarias gariepinus*). Bioactive compounds of guava leaves (*P. guajava*) were extracted according to polar compound extraction method. This research was conducted in two test, the *in vitro* and the *in vivo* test. The *in vitro* test to *Aeromonas hydrophila* was determined by *dish assay* method for three doses of guava leaves polar extract, 1, 2, and 3 gram. *Aeromonas hydrophila* was infected into *C. gariepinus* by submersion of bacterial suspension into water with 10^6 CFU/ml bacterial density. The treatment of guava leaves polar extract was given at one day after infection for three doses, 10, 20, and 30 mg/l also tetracycline dose 10 mg/l as comparison. The treatment was conducted in five days and observed until fifteenth for three parameters of disease, irregular ulser, hemorrhage at fins and edema. The *in vitro* test obtained showed that the highest diameter of clear zone was about 3,5 mm at guava leaves polar extract with dose 3 gram. The result of *in vivo* test showed that *P. guajava* leaves polar extract for dose 30 mg/l given by submersion of polar extract into water once a day for five days was effective than dose 10 and 20 mg/l with recovery time in 11 days.

Key words : *Psidium guajava*, *Aeromonas hydrophila*, *Clarias gariepinus*, *in vitro* test, *in vivo* test

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT. atas limpahan kasih sayang dan hidayah-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan penyusunan naskah skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Polar Daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*).

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya atas dukungan, bantuan dan bimbingan, baik secara moril maupun materi, kepada :

1. Awik Puji Dyah, SSi., MSi. dan Endry Nugroho Prasetyo, SSi., MT., selaku dosen pembimbing, yang telah berkenan memberikan arahan dan petunjuk hingga tersusunnya skripsi ini
2. Tutik Nurhidayati, SSi., MSi., Nengah Dwianita K., SSi., MSi., dan Dra. Enny Zulaika, MP. selaku dosen penguji dari Program Studi Biologi FMIPA ITS Surabaya.
3. Dra. Dian Saptarini, MSc., selaku dosen wali dan ketua Program Studi Biologi FMIPA ITS Surabaya, yang selalu memberikan dukungan dan motivasi dalam menempuh Tugas Akhir di Program Studi Biologi FMIPA ITS Surabaya.
4. Ir. Ninis Trisyani, MSi., dosen Fakultas Teknologi Kelautan dan Perikanan Univ. Hang Tuah Surabaya, atas saran dan kritik pada metode penelitian
5. Dr. Ir. Triyanto, MSi., dosen Jurusan Perikanan Fak. Pertanian, Univ. Gadjah Mada, Yogyakarta, atas saran, kritik dan informasi yang diberikan
6. Yang terhormat dan tersayang, Ibu dan Ayah, serta saudara-saudaraku, Ellen dan Andi, atas pengertian, do'a dan motivasi yang diberikan
7. Affandi, Amd. dan Kristin, Amd., Teguh dan Budi, atas bantuan yang tak terhingga dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Umum, Program Studi Biologi FMIPA ITS Surabaya
8. Teman-teman yang banyak membantu penelitian ini, Wirdhatul Muslihatin, Ari Wigati, Miftahus Sa'adah, Eva Ardianah, Sitta Amaliyah, Tomo Rahaelly, Aga Puji Siswo, Syarif Hidayatullah, Ramawati, Mustofa bin Zein, Irasanti dan teman-temanku lainnya yang banyak memberikan saran dan informasi

pendukung penelitian, juga terkhusus, Riesky Dharmawan, S.Si. (mas Kiky), sebagai mitra terbaikku dalam segala hal

9. Seluruh bapak dan ibu dosen Program Studi Biologi FMIPA ITS Surabaya, narasumber terkait dengan judul skripsi, para sahabat dan senior-senior angkatanku, Trigaya Setiati, S.Si., Viveri Farida I., S.Si., Setiawati Kaning, Asih Sagita, Emi Ariyanti, Surisma dan semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Surabaya, 29 Juni 2006



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
LEMBAR PERSEMBAHAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	3
1.2. Permasalahan	4
1.3. Tujuan	
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. <i>Clarias gariepinus</i> (Lele Dumbo)	5
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2. Habitat dan Faktor Pembatas	7
2.1.3. Pertumbuhan	8
2.1.4. Makan dan Kebiasaan Makan	9
2.2. <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.3. Motile Aeromonad Septicemia (MAS)	12
2.4. <i>Psidium guajava</i>	14
2.5. Ekstraksi	
III. METODOLOGI	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2. Bahan, Alat dan Cara Kerja	15

	Halaman
3.3. Rancangan Penelitian	22
3.4. Analisa Data	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Uji antibakteri ekstrak polar daun Psidium guajava secara <i>in vitro</i>	24
4.2. Infeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> pada lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	26
4.3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak polar daun jambu biji secara <i>in vivo</i>	28
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	36
5.2. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42

DAFTAR GAMBAR



Gambar	Judul	Halaman
2.1.	<i>Clarias gariepinus</i>	6
2.2.	Morfologi daun <i>Psidium guajava</i>	13
3	Hasil pengamatan hemorrhage pada sirip ikan lele dumbo (<i>C. gariepinus</i>) setelah diinfeksi dengan <i>A. hydrophila</i> 10^6 CFU/ml dan pengobatan	29
4	Jumlah ikan lele dumbo (<i>C. gariepinus</i>) yang hidup setelah diinfeksi <i>A. hydrophila</i> 10^6 CFU/ml dan dilakukan pengobatan	34
5	Simplisia daun Jambu biji (<i>Psidium guajava</i>). Tahap pertama sebelum dilakukan ekstraksi	46
6	Bubuk halus simplisia daun Jambu biji (<i>Psidium guajava</i>)	46
7	Ekstrak polar daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i>), dosis 1, 2, dan 3 g	47
8	Zona terang pada <i>Aeromonas hydrophila</i> setelah diberi ekstrak polar daun <i>Psidium guajava</i> dosis 1 g (Ah/jb/1), 2 g (Ah/jb/2), dan 3 g (Ah/jb/3) serta tanpa pemberian ekstrak / 0 g (Ah/jb/0)	47
9	Lele dumbo (<i>C. gariepinus</i>) ukuran panjang total 8 cm yang mengalami edema (ditunjukkan dengan tanda panah), akibat direinfeksi dengan <i>Aeromonas hydrophila</i>	48
10	Isolasi bakteri <i>A. hydrophila</i> hasil reinfeksi pada lele dumbo ukuran 8 cm yang ditanam pada medium GSP	48
11	Lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) sehat dengan panjang total 15,5 cm	49
12	Uji aktivitas antibakteri ekstrak polar daun <i>P. guajava</i> secara <i>in vivo</i>	49
13	<i>Clarias gariepinus</i> yang mengalami hemorrhage pada sirip pectoral (ditunjukkan dengan tanda panah), akibat infeksi <i>A. hydrophila</i>	50
14	<i>Clarias gariepinus</i> yang mengalami hemorrhage pada sirip dorsalis (ditunjukkan dengan tanda panah), akibat infeksi <i>A. hydrophila</i>	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1	Rata-rata diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh <i>A. hydrophila</i> terhadap pemberian ekstrak polar daun jambu biji (<i>P. guajava</i>)	25
2	Jumlah ikan lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) yang menunjukkan gejala hemorrhage pada sirip dan jumlah mortalitas setelah diinfeksi <i>Aeromonas hydrophila</i> secara rendaman	44
3	Data hasil pengukuran kualitas air tiap perlakuan	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Skema Kerja	42
2	Jumlah ikan lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>) yang menunjukkan gejala hemorrhage pada sirip dan jumlah mortalitas setelah diinfeksi <i>Aeromonas hydrophila</i> secara rendaman	44
3	Data hasil pengukuran kualitas air tiap perlakuan	45
4	Gambar	46
5	Regresi linier (kurva baku) <i>Aeromonas hydrophila</i>	51
6	Analisa variansi dan uji Duncan hasil uji <i>in vitro</i>	52

LEMBAR PERSEMBAHAN



❧ *Skripsi ini kupersembahkan untuk Ibunda dan
Ayahanda tercinta atas kasih sayang dan ilmu
pengetahuan yang tiada henti ❧*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Budidaya ikan Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) telah berkembang secara intensif. Namun, dalam pelaksanaannya sering ditemukan penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penyakit MAS dapat menyebabkan kematian antara 80 – 100% pada ukuran benih dalam waktu sekitar 5 – 10 hari. Sedangkan pada ukuran induk antara 53% - 60% dalam waktu sekitar 20 – 50 hari (Kamiso dan Triyanto (1996).

Penyakit MAS mempunyai nama lain, yaitu penyakit *hemorrhagic septicemia*, *red sore of pilce*, *redmouth disease*, *red leg disease of frog* dan *bacterial septicemia*. Kepadatan yang tinggi, luka oleh parasit eksternal, fluktuasi suhu yang mencolok serta penanganan yang menimbulkan luka dan hilangnya sisik menjadi faktor-faktor yang mendorong timbulnya penyakit tersebut. Selain itu, wabah penyakit MAS akibat bakteri tersebut ditimbulkan oleh suatu kondisi lingkungan yang terakumulasi oleh penurunan kandungan oksigen terlarut, defisiensi nutrisi dan banyaknya kotoran yang dihasilkan ikan dalam air yang jarang dilakukan pergantian (Post, 1983).

A. hydrophila adalah bakteri gram negatif, bergerak dengan satu flagela polar (Talaro, 2005; Cipriano, 2001; Berkeley, 2000) dan bersifat fakultatif anaerob (Camus, *et al.*, 1998). Penyebaran bakteri *A. hydrophila* di lingkungan

perairan sangat cepat dan bersifat patogen sehingga mudah menyerang organisme akuatik, seperti ikan, katak, mamalia dan juga manusia (Camus, *et al.*, 1998).

Penanggulangan penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*) sampai sekarang menggunakan obat-obatan dan antibiotik baik secara tunggal maupun campuran, ke dalam air maupun melalui pakan (Kamiso, *et al.*, 1997a; Kamiso, *et al.*, 1997b; Kamiso dan Triyanto, 1996). Penggunaan bahan-bahan tersebut selain relatif mahal dan masih impor, juga dapat mengakibatkan dampak negatif terhadap lingkungan berupa limbah residu antibiotik serta menimbulkan resistensi pada bakteri (Ryandini, *et al.*, 2004). Selain itu, penggunaan antibiotik untuk mengatasi serangan *A. hydrophila* juga dapat menekan tanggapan kekebalan dan pertumbuhan ikan (Kamiso dan Triyanto, 1996). Oleh karena itu perlu dicari bahan lain sebagai upaya alternatif dengan bahan lokal yang lebih murah, mudah didapatkan dan terutama ramah lingkungan, misalnya dengan menggunakan bahan kimia yang diperoleh secara alami. Bahan kimia tersebut diharapkan dapat bersifat sebagai antibakteri sehingga dapat menghambat atau menanggulangi infeksi *A. hydrophila* pada *C. gariepinus*.

Daun *Psidium guajava* diketahui memiliki kemampuan sebagai tumbuhan obat pada beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Hal ini dikarenakan daun *P. guajava* mengandung senyawa kimia yang disebut flavonoid (golongan senyawa fenolik) yang bersifat sebagai zat antibakteri (Angka, *et al.*, 2002). Penelitian yang dilakukan Angka *et al* (2002) menunjukkan ekstrak air dari daun *P. guajava* dapat menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* baik secara *in vitro* maupun *in vivo* terhadap lele dumbo.

Ekstraksi dengan pelarut organik polar berupa metanol dan etanol merupakan salah satu metode untuk mendapatkan senyawa organik dari golongan fenol, yang memiliki kepolaran lebih rendah daripada alkohol (Harborne, 1994). Hasil ekstraksi ini disebut **ekstrak polar**. Kelebihan ekstraksi senyawa polar dibandingkan metode pemisahan seperti kromatografi lapis tipis yaitu metode ekstraksi senyawa polar lebih cepat dan mudah (Ryandini, *et al.*, 2004). Melalui ekstraksi dengan pelarut polar, diharapkan senyawa aktif yang bersifat antibakteri dari daun Jambu biji (*P. guajava*) mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada ikan Lele dumbo (*C. gariepinus*).

1.2. Permasalahan

Untuk mengatasi infeksi *A. hydrophila* pada ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*), perlu ditentukan dosis antibakteri dari ekstrak polar daun Jambu biji (*P. guajava*) yang memiliki daya hambat paling tinggi secara *in vitro* (dilihat dari panjang diameter zona hambatan). Dosis tersebut kemudian digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dari ekstrak polar daun *P. guajava* secara *in vivo* pada *C. gariepinus* yang diinfeksi dengan *A. hydrophila*.

Oleh karena itu, permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah :

1. Berapakah dosis antibakteri dari ekstrak polar daun Jambu biji (*P. guajava*) yang memiliki daya hambat paling tinggi pada pertumbuhan *A. hydrophila* secara *in vitro*?

2. Bagaimana aktivitas antibakteri dari ekstrak polar daun Jambu biji (*P. guajava*) terhadap infeksi *A. hydrophila* pada ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) secara *in vivo*?

1.3. Tujuan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan, antara lain :

1. untuk mendapatkan dosis antibakteri dari ekstrak polar daun Jambu biji (*P. guajava*) yang memiliki daya hambat paling tinggi terhadap *A. hydrophila* secara *in vitro*
2. untuk menguji aktivitas dosis *in vitro* antibakteri yang memiliki daya hambat paling tinggi dari ekstrak polar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dalam mengatasi infeksi *A. hydrophila* pada ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Clarias gariepinus* (Lele Dumbo)

2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) menurut Teugels (1986)

adalah :

Kingdom : Animalia
Sub Kingdom : Metazoa
Phyllum : Chordata
Sub Phyllum : Vertebrata
Classis : Pisces
Sub Classis : Teleostei
Ordo : Ostariophysi
Sub Ordo : Siluroidea
Familia : Clariidae
Genus : *Clarias*
Species : *Clarias gariepinus*

Ikan Lele dumbo (*C. gariepinus*) merupakan ikan air tawar yang diintroduksi dari Taiwan pada tahun 1986. Ikan ini merupakan hasil persilangan dari induk jantan *C. mossambicus* yang berasal dari Kenya dan induk betina *C. fuscus* dari Taiwan (Skelton, 1993). Memiliki karakter khusus yang dapat dibedakan dengan ikan genus *Clarias* lainnya, antara lain : tubuh memanjang,

tidak memiliki sisik, bagian kepala pipih dan besar, batok kepala keras serta meruncing ke belakang. Lele dumbo (*C. gariepinus*) adalah jenis lele yang ukuran tubuhnya relatif lebih besar dibandingkan lele lokal (*C. batrachus*). Ciri spesifik lainnya dari spesies ini adalah tubuh pada bagian dorsal berwarna coklat tua, berubah menjadi loreng bila stress, bagian ventral putih, patil tidak beracun, mulut yang lebar dan di sekitar mulut terdapat sungut berjumlah empat pasang (Hartono, 2001). Lele dumbo mempunyai lima buah sirip yang terdiri dari sirip berpasangan dan sirip tunggal, duri yang kokoh pada bagian tepi sirip pektoral, yang digunakan sebagai alat pertahanan diri atau untuk bergerak di daratan. Dibanding lele lokal, patil lele dumbo lebih pendek dan tumpul (Santoso, 1994). Morfologi *C. gariepinus* dapat dilihat pada Gambar 2.1 di bawah ini.



Gambar 2.1. *Clarias gariepinus* (Skelton dan Teugels, 1992).

2.1.2. Habitat dan Faktor Pembatas

C. gariepinus merupakan spesies yang mampu hidup pada kisaran suhu lingkungan yang luas dari 20° - 35°C dengan suhu optimal pada 25° – 29°C. Sedangkan untuk pertumbuhan larva diperlukan kisaran suhu antara 26° - 30°C.

Habitatnya di sungai dengan arus air yang perlahan, rawa, telaga, waduk, sawah yang tergenang air. Lele Dumbo bersifat nokturnal, yaitu aktif bergerak mencari makanan pada malam hari. Tetapi pada siang hari berdiam diri dan berindung di tempat-tempat gelap. Di alam ikan Lele Dumbo memijah pada musim penghujan (Polling, *et al.*, 1988).

Beberapa faktor pembatas yang penting untuk mendukung pertumbuhan *C. gariepinus*, antara lain : salinitas 0 - 12 ppt, namun optimal pada 0 - 2,5 ppt; pH 6,5 – 9; kesadahan (derajat butiran kasar) maksimal 100 ppm dan optimal 50 ppm; kebutuhan oksigen optimal pada range yang cukup lebar, dari 0,3 ppm untuk yang dewasa sampai jenuh untuk juvenil; kandungan CO₂ kurang dari 12,8 mg/liter dan amonium terikat 147,29 - 157,56 mg/liter (Bappenas, 2000; Britz dan Hecht, 1989; Bruton, 1988).

2.1.3. Pertumbuhan

Pertumbuhan *C. gariepinus* baik untuk jantan maupun betina secara alami dapat mencapai panjang total antara 20 – 30 cm pada tahun pertama setelah dipijahkan. Pertambahan panjang total pada tahun berikutnya bervariasi antara 5 – 15 cm per tahun. Panjang total dapat mencapai ukuran maksimum 100 cm pada umur 9 tahun (van der Waal, *et al.*, 1975).

Menurut Quick dan Bruton (1984), tidak ada perbedaan yang signifikan antara laju pertumbuhan jantan dan betina. Kedewasaan seksual jantan dan betina dapat dicapai antara umur 1 – 4 tahun. Hal ini tergantung pada faktor-faktor lingkungan yang akan menentukan kondisi dan laju pertumbuhannya.

Berat tubuh maksimum *C. gariepinus* yang biasa ditemukan pada hampir semua danau dan sungai-sungai kecil di Afrika Selatan, Namibia, Zimbabwe dan Malawi memiliki kisaran ± 20 kg. Namun, berat tubuh ikan Lele Dumbo juga dapat mencapai 40 kg – 58,9 kg (Clay, 1979).

2.1.4. Makan dan Kebiasaan Makan

C. gariepinus aktif mencari makan pada malam hari dan lebih efisien dalam menangkap mangsa pada intensitas cahaya yang rendah. Mulutnya yang lebar dan terletak pada subterminal memungkinkan untuk menelan mangsa yang berukuran besar bahkan volume air yang cukup besar pada saat *filter feeding*. Umumnya *C. gariepinus* makan zooplankton dan fitoplankton seperti, *Anabaena* spp, *Navicula* spp, dan *Gomphonema* spp, larva, cacing-cacing dan serangga air serta ikan (Bruton, 1979 dan Bappenas, 2000).

C. gariepinus juvenil (ukuran panjang total di atas 5 cm) lebih menyukai larva chironomid, udang-udangan dan crustacea planktonik ataupun bentik. Sedangkan juvenil besar (panjang total ± 10 cm) lebih menyukai larva serangga air, larva ikan dan kepiting berukuran kecil. Pada saat dewasa, *C. gariepinus* akan memakan ikan, kepiting dan moluska. Selain mengenal mangsanya dengan alat penciuman, ikan ini dapat mengenal dan menemukan makanan dengan cara rabaan atau menggerak-gerakkan salah satu sungutnya, terutama sungut mandibular (Santoso, 1994). Pemangsaan dilakukan secara lambat, bergerak mengintai di bawah mangsanya. Tetapi, untuk mangsa yang bergerak cepat, pemangsaan dilakukan dengan strategi berburu secara berkelompok. Biasanya hal ini dilakukan untuk menangkap sekelompok ikan-ikan kecil. Ketika sumber

makanan mulai langka, *C. gariepinus* dapat bersifat oportunistik dengan memanfaatkan sumber makanan alternatif seperti tumbuhan air maupun detritus (Bruton, 1979).

2.2. *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila merupakan bakteri yang sangat umum ditemukan di perairan tawar dan sering menyebabkan penyakit pada ikan yang dibudidayakan maupun secara alami. Bakteri *A. hydrophila* berbentuk basil, berukuran pendek (diameter 0.3 – 1 µm dan panjang 1 – 3.5 µm), gram negatif dan merupakan bakteri motil yang dilengkapi satu flagela polar (*monotrich*). Hidup berkoloni atau membentuk rangkaian pendek pada media kultur. Merupakan bakteri fakultatif anaerob dan *chemoorganotrophic*, serta dapat hidup pada temperatur optimal 22° - 30°C. Secara biokimia, dapat mereduksi nitrat, menghidrolisis *esculin*, memfermentasi *salicin* dan *arabinose* serta memproduksi H₂S (Berkeley, 2000).

Koloni bakteri *A. hydrophila* berbentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung berwarna kuning keputih-putihan dengan diameter 2 – 3 mm pada medium selektif R-S agar yang diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 25°C (Cipriano, 2001). Bakteri *A. hydrophila* tidak membentuk kapsul maupun spora. Bakteri ini menghasilkan bermacam-macam toksin, seperti enterotoksin, hemolisin dan bermacam-macam enzim seperti gelatinase, caseinase, elastase, lipase, lecithinase, staphylolyase, deoxyribonuclease dan ribonuclease (Nurhayati, 2003; Berkeley, 2000; Post, 1983).

2.3. Motile Aeromonad Septicemia (MAS)

Penyakit merupakan hasil dari infeksi patogen terhadap inang, yang ditunjukkan dengan adanya gejala tertentu berupa abnormalitas struktur atau fungsi tubuh. Timbulnya penyakit dalam budidaya perikanan secara umum terjadi karena adanya ketidakseimbangan interaksi antara inang, patogen dan lingkungan perairan. Kondisi lingkungan, khususnya faktor fisik, kimia dan biologi dalam perairan merupakan parameter utama yang mempengaruhi keseimbangan antara ikan atau inang dan agensia patogen. Dengan demikian, kondisi atau kualitas lingkungan yang buruk akan menimbulkan stres pada ikan sehingga ikan sangat rentan terhadap penyakit (Adams, 1990; Post, 1983).

Salah satu penyakit yang kerap terjadi dalam budidaya perikanan adalah *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS). Penyakit ini ditimbulkan akibat infeksi *A. hydrophila* pada beberapa organisme perairan air tawar, khususnya ikan. Patogenisitas *A. hydrophila* disebabkan adanya endotoksin yang terdapat pada struktur *Lipopolysacharida* (LPS) pada dinding selnya. Endotoksin ini menyebabkan radang dan demam pada hewan inang. Bakteri *A. hydrophila* juga dapat memproduksi protease ekstraseluler yang berfungsi baik untuk melawan pertahanan inang dan mengambil penyediaan nutrisi sehingga memungkinkan bakteri berkembang biak (Meilanny, 2004). Bakteri patogen seperti *A. hydrophila* mudah sekali menyerang apabila ikan mengalami luka. Adanya pembuluh darah yang lepas atau rusak, bakteri mudah sekali masuk ke dalam tubuh ikan melalui sistem peredaran darah, menuju organ-organ tubuh, dengan mengeluarkan protease untuk melawan antibodi dalam sel-sel darah sehingga sistem pertahanan

tubuh ikan lemah. Dengan demikian, *A. hydrophila* terus berkembang biak dalam tubuh ikan.

Patogenitas penyakit ini dibagi menjadi tiga kondisi, yaitu akut, kronis dan infeksi yang tersembunyi (laten). Hal ini bergantung pada banyaknya faktor lingkungan yang saling berinteraksi, termasuk keganasan bakteri, macam dan tingkatan stres pada populasi ikan, kondisi fisiologi dari inang, dan tingkat resistensi genetik dalam tubuh inang. Faktor stres lingkungan menyebabkan ikan mudah sekali terserang *A. hydrophila* (Cipriano, 2001). Kepadatan yang tinggi, luka oleh parasit eksternal, fluktuasi suhu yang mencolok serta penanganan yang menimbulkan luka dan hilangnya sisik menjadi faktor-faktor yang mendorong timbulnya penyakit tersebut. Selain itu, wabah penyakit MAS akibat bakteri tersebut ditimbulkan oleh suatu kondisi lingkungan yang terakumulasi oleh penurunan kandungan oksigen terlarut, defisiensi nutrisi dan banyaknya kotoran yang dihasilkan ikan dalam air yang jarang dilakukan pergantian (Post, 1983).

Gejala yang dapat diamati pada ikan yang terinfeksi MAS, antara lain *dermal ulceration* (kulit luka bernanah), sirip dan ekor membusuk, *erythrodermatitis*, *hemorrhagic septicemia*, penyakit luka merah (*red sore disease*) dan terdapat penonjolan sisik (Paniagua, *et al.*, 1990). Pada infeksi akut, *septicemia* terjadi secara cepat dan menyebabkan ikan mati. Gejala klinis yang ditunjukkan sebelum ikan mati, antara lain *exophthalmia* (mata menonjol), kulit semakin memerah dan akumulasi cairan dalam kantung sisik. Abdomen membengkak akibat edema dan insang mengalami pendarahan (*hemorrhage*) serta penyebaran luka pada kulit semakin cepat (Faktorovich, 1969). Gejala internal

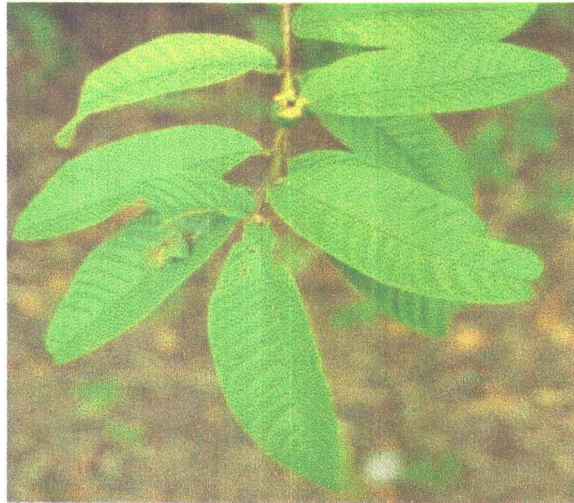
penyakit ini serupa dengan gejala penyakit akibat bakteri gram negatif septicemia yang lain, yaitu pembengkakan ginjal tetapi tidak lembek, petikiae (bintik merah) pada otot daging dan peritoneum serta pembengkakan limpa dan warna hati menjadi kehitaman (Nurhayati, 2003). Menurut Cipriano (2001), *A. hydrophila* menginfeksi organ dalam melalui saluran pencernaan atau melalui kulit yang tidak terluka pada suhu 24°C dan kepadatan yang tinggi (13.1 g bobot ikan/L).

2.4. *Psidium guajava*

Klasifikasi Jambu biji menurut Tjitrosoepomo (2000) adalah sebagai berikut :

Regnum : Plantae
Sub Regnum : Tracheobionta
Super Divisio : Spermatophyta
Divisio : Magnoliophyta
Classis : Magnoliopsida
Sub Classis : Rosidae
Ordo : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Genus : *Psidium*
Species : *Psidium guajava* L

Morfologi daun *P. guajava* dapat dilihat pada Gambar 2.2 di bawah ini.



Gambar 2.2. Morfologi Daun *Psidium guajava* (Morton, 1987).

Jambu biji (*Psidium guajava*) merupakan tumbuhan pohon yang tingginya dapat mencapai 10 meter. Batang bercabang dengan diameter 25 cm dan mudah dikenali karena kulit batangnya yang berwarna seperti tembaga mengkilat, halus dan tipis, yang dilapisi warna kehijau-hijauan pada lapisan di dasarnya. Daun duduk berhadapan pada tangkai daun, bertangkai pendek, bentuk oval atau elips, dengan panjang 7 – 15 cm serta memiliki petiola yang kecil panjang 4 – 7 cm (Morton, 1987., van Steenis, 1990).

Daun *P. guajava* kaya akan flavonoid, khususnya *quercetin*. Hampir semua aktivitas pengobatan dengan menggunakan daun Jambu biji (*P. guajava*) didasarkan atas kandungan flavonoidnya (G.D. Lutterodt, *et al.*, 1999). Menurut Abdelrahim (2002), flavonoid yang terdapat dalam daun *P. guajava* berperan sebagai antibakteri. *Quercetin*, salah satu jenis flavonoid dalam daun *P. guajava* merupakan senyawa flavonoid penting yang berperan sebagai antibakteri.

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemindahan massa bahan bioaktif yang semula berada di dalam sel akan ditarik oleh pelarut ekstraksi sehingga menghasilkan larutan bahan aktif di dalam pelarut ekstraksi. Misalnya, ekstrak yang mengandung bahan aktif polar dan akan digunakan dalam bentuk semprotan (pengencer air) lebih mudah diformulasikan bila dalam ekstraksi digunakan pelarut yang polar (Ruslan, *et al.*, 1989).

Alkohol merupakan pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan. Bila mengisolasi senyawa dari jaringan tumbuhan, keberhasilan ekstraksi dengan alkohol berkaitan langsung dengan seberapa jauh klorofil tertarik oleh pelarut tersebut. Bila ampas jaringan pada ekstraksi ulang sudah tidak berwarna hijau sama sekali, maka dapat dianggap semua senyawa berbobot molekul rendah telah terekstraksi. Metode ini berguna bila bekerja dengan skala gram (Harborne, 1987).

Bahan tanaman yang akan diekstraksi, terlebih dahulu dikeringkan di udara untuk menghilangkan kandungan airnya sehingga proses pemurnian ekstrak menjadi lebih mudah. Pengeringan dengan suhu agak tinggi dalam oven atau di bawah sinar matahari dapat menurunkan kandungan bahan aktifnya (Andriani, 2002). Ekstraksi bahan aktif tumbuhan dengan eluen n-heksan dapat menyari senyawa-senyawa non polar. Sedangkan ekstraksi dengan eluen etil dan metanol dapat menyari senyawa-senyawa aktif dalam tumbuhan yang bersifat semi polar dan polar (Ruslan, *et al.*, 1989).

BAB III

METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Umum FMIPA ITS Surabaya, mulai bulan Maret sampai Mei 2006.

3.2. Bahan, Alat dan Cara Kerja

3.2.1. Ekstraksi senyawa polar

Sebanyak 100 g daun *Psidium guajava* yang masih segar dicuci dengan akuades steril, dikeringkan pada suhu kamar ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) sampai tekstur daun seperti kertas (sangat kering), dipotong kecil-kecil lalu dihaluskan dengan blender sampai menjadi bubuk halus (seperti butiran pasir). Bubuk halus daun jambu biji dibagi menjadi tiga dosis, yaitu 1.0, 2.0 g dan 3.0 g lalu masing-masing dimasukkan ke dalam pelarut etanol 50 % (maserasi dengan rasio 1 : 10, bb/v) dalam beker gelas 100 ml sampai seluruh bubuk halus terendam (Qian He dan Venant, 2004). Diaduk sesekali dengan spatula untuk memastikan semua bubuk terendam dan dibiarkan selama ± 48 jam, sehingga terbentuk filtrat yang jernih (Qian He dan Venant, 2004; Ryandini, *et al*, 2004).

Filtrat masing-masing dosis dimasukkan ke dalam *microfuge tube* (1 ml/tube) lalu diekstraksi dengan *sentrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm untuk mengendapkan debris selnya (Harborne, 1987). Hasil sentrifugasi berupa pellet dan supernatan, untuk pellet dibuang, sedangkan

supernatannya ditampung dalam beker glas 100 ml yang baru. Kemudian supernatan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 30° – 40°C dengan kecepatan putaran 30 – 40 rpm (Ryandini, *et al.*, 2004) agar mendapatkan konsentrasi minimal 10 % dari volume awal (Qian He dan Venant, 2004). Pemekatan dengan *rotary evaporator* dihentikan jika sudah tidak terbentuk uap. Bahan yang tertinggal sebagai hasil ekstraksi disebut ekstrak polar, berbentuk padat dan sangat pekat. Kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat akhir setelah diadakan pemekatan, sehingga pada uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* dapat dikalibrasikan dengan dosis antibiotik yang digunakan sebagai pembanding .

3.2.2. Penyiapan kultur bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* dari biakan murni (diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi - Fakultas Kedokteran Hewan, UNAIR - Surabaya) diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasi ke dalam medium TSA (*Tryptone Soya Agar*), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C.

3.2.3. Peningkatan virulensi bakteri *A. hydrophila*

Peningkatan virulensi bakteri *A. hydrophila* dilakukan menurut metode postulat Koch, yaitu dengan melakukan reinfeksi dan reisolasi *A. hydrophila* terhadap ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sehat yang memiliki ukuran 5 – 8 cm dan berat 8 – 10 g, sebanyak lima ekor. Kultur bakteri dari medium TSA (dari cara kerja 3.2.2), disuspensikan sebanyak 1 ose ke dalam 10 ml TSB (*Trypticase*

Soy Broth), diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam, kemudian disuntikkan secara intramuskuler sebanyak 0,1 ml/ekor. Lele dumbo yang telah diinfeksi dipelihara selama lima hari dan diamati gejala penyakit setiap hari pada pagi dan sore hari. Isolasi dilakukan setelah diketahui terdapat lele dumbo yang mati. Isolasi bakteri dari sampel lele dumbo dilakukan secara aseptis dari organ ginjal dengan menggunakan jarum ose steril ke dalam medium selektif GSP (*Pseudomonas – Aeromonas Agar*) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam (Nurhayati, 2003). Kultur bakteri virulen *A. hydrophila* dipindahkan ke dalam medium TSA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam.

3.2.4. Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro*

Uji *in vitro* dilakukan dengan menggunakan ekstrak polar dari daun *P. guajava* dengan tiga dosis, yaitu 1.0 g, 2.0 g dan 3.0 g serta kontrol. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* dilakukan dengan metode cakram kertas saring (Enny, 2005). Sebanyak 1 ose bakteri *A. hydrophila* hasil reinfeksi (dari cara kerja 3.2.3) diinokulasi ke dalam media TSB 15 ml lalu dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Biakan bakteri diinkubasi selama 24 jam. Satu ml biakan bakteri yang berumur 24 jam diinokulasikan kembali ke dalam cawan petri yang berisi media TSA.

Setelah media TSA membeku (\pm 15 menit), dengan menggunakan pipet steril, dimasukkan kertas cakram berdiameter 10 mm yang telah dicelupkan ke dalam masing-masing dosis ekstrak polar daun *P. guajava* (dari cara kerja 3.2.1).

Lima belas menit kemudian media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Pengamatan dilakukan terhadap zona hambatan berupa zona terang yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Jika terjadi zona terang di sekitar kertas cakram maka antibakteri dari ekstrak polar daun *P. guajava* menunjukkan uji positif. Zona terang yang diperoleh kemudian diukur dengan menggunakan penggaris milimeter.

Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur diameter zona terang, setelah itu dikurangi diameter kertas cakram lalu dibagi dua. Dengan demikian, bagian yang diukur sebenarnya adalah rata-rata zona terang terhitung dari tepi kertas cakram. Jika tidak terjadi zona terang dapat dikatakan uji ini negatif yang berarti pula tidak ada aktivitas antibakteri dalam ekstrak polar daun *P. guajava*. Rata-rata panjang zona terang yang terluas kemudian digunakan sebagai pedoman dosis yang paling efektif untuk uji antibakteri secara *in vivo*.

3.2.5. Aklimatisasi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang digunakan sebagai hewan uji berukuran panjang \pm 15 cm dengan berat 20 – 35 g, diperoleh dari Balai Pembibitan Lele, Pacet, Mojokerto. Semua peralatan untuk pemeliharaan ikan lele dumbo disterilkan dengan deterjen (dicuci bersih), kemudian merendam alat tersebut ke dalam larutan klorin atau kaporit 150 ppm selama 24 jam, lalu dikeringkan selama 24 jam. Untuk air media pemeliharaan disterilkan dengan menggunakan kaporit 150 ppm kemudian larutan Natrium thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 75 ppm. Keduanya bersifat sebagai desinfektan (Meilanny, 2004).

C. gariepinus ditempatkan pada bak-bak percobaan yang berdiameter ± 33 cm dan tinggi 15 cm (volume ± 10.5 l) dengan kepadatan 3 ekor/bak (Bappenas, 2000). Dilakukan pengukuran panjang dan berat tubuh lele, lalu air pemeliharaan diaerasi dan dibiarkan selama 24 jam untuk penyesuaian terhadap lingkungan yang baru terutama terhadap suhu.

3.2.6. Pembuatan Kurva Baku *A. hydrophila*

Kurva baku digunakan untuk mengetahui hubungan linier antara kandungan sel bakteri dalam suspensi (CFU/ml) dengan nilai absorbansi. Kultur bakteri *A. hydrophila* (dari cara kerja 3.2.3) umur inkubasi ± 12 jam dalam medium TSB diinokulasikan 1 ml secara bertingkat dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-9} ke dalam 9 tabung, masing-masing berisi 9 ml TSB. Masing-masing suspensi bakteri dalam tabung (dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-9}) dihomogenisasi dengan vortex kemudian diperiksa nilai absorbansinya (*Optical Density* / OD) melalui spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 μ m. Selain itu, masing-masing suspensi bakteri dalam tabung diinokulasikan sebanyak 1 ml secara *pour plate* (metode agar tuang) ke dalam cawan petri yang berisi medium TSA hangat (suhu 40 - 45°C) dan didiamkan selama 10 – 15 menit. Kemudian bakteri diinkubasi 30°C selama 24 jam, dihitung jumlah koloni bakteri per ml (CFU/ml) dan diubah ke dalam nilai logaritmik (log).

Hubungan nilai absorbansi (OD) dan nilai log jumlah koloni bakteri per ml dibuat dalam bentuk kurva dan dicari persamaan regresi liniernya. Nilai log jumlah koloni bakteri per ml (CFU/ml) sebagai ordinat dan nilai absorbansi (OD)

sebagai absis. Sehingga persamaan regresi linier dan kurva baku *A. hydrophila* dapat digunakan untuk mengubah nilai absorbansi suspensi bakteri yang terukur dengan jumlah koloni bakteri per ml (CFU/ml) sebenarnya.

3.2.7. Infeksi bakteri *A. hydrophila* pada *Clarias gariepinus*

Infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) dilakukan secara rendaman yaitu perendaman inokulum bakteri *A. hydrophila* yang sudah ditingkatkan virulensinya (dari cara kerja 3.2.3) di dalam air pemeliharaan (volume ± 10.5 l) selama 60 menit (Kamiso, dan Triyanto, 1996). Cara infeksi dengan menuangkan suspensi biakan bakteri dengan kepadatan 10^6 CFU/ml, sebagai LD₅₀ (Kamiso dan Triyanto, 1997a). Untuk menetapkan kepadatan bakteri 10^6 CFU/ml ke dalam air, diperoleh dari regresi linier pada kurva baku *A. hydrophila* (dari cara kerja 3.2.6), kurva baku dapat dilihat di lampiran 5. Selama penelitian ikan lele dumbo diberi pakan pelet tiga kali sehari sebanyak 5 % dari berat tubuh ikan secara *ad libitum* (Kamiso dan Triyanto, 1996).

3.2.8. Uji aktivitas antibakteri secara *in vivo*

Uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* dirancang menggunakan lima macam perlakuan, terdiri atas :

1. kontrol (tanpa perlakuan)
2. perendaman dengan antibiotik tetrasiklin (dosis 10 mg/l volume air pemeliharaan untuk 5 hari menurut Suyanto (2004)

3. perendaman ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) yang memiliki daya hambat paling tinggi dari uji antibakteri secara *in vitro* (dari cara kerja 3.2.4.) dengan dosis 10 mg/l
4. perendaman ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) (dari cara kerja 3.2.4.) dengan dosis 20 mg/l
5. perendaman ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) (dari cara kerja 3.2.4.) dengan dosis 30 mg/l

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Ikan kontrol adalah ikan uji yang tidak mendapat perlakuan rendaman ekstrak polar daun *Psidium guajava*.

Seluruh perlakuan diinfeksi dengan *A. hydrophila*. Satu hari setelah diinfeksi, ikan uji diberi perlakuan rendaman ekstrak polar daun *P. guajava* dan antibiotik tetrasiklin yang dilarutkan dalam air tiap hari sekali selama 5 hari pengobatan (Suyanto, 2004; Angka *et al.*, 2002). Perubahan kondisi ikan uji diamati selama 15 hari, dihitung sejak hari pertama pengobatan dan data dimasukkan dalam tabel hasil percobaan. Pengamatan dilakukan terhadap kelainan klinis atau gejala penyakit dengan tiga parameter yaitu ulser (borok) yang berbentuk bulat atau tidak teratur, *hemorrhage* pada sirip, serta pembengkakan abdomen.

3.2.9. Pengukuran dan Pengamatan Kualitas Air

Selama penelitian berlangsung dilakukan pengukuran kualitas air. Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui apakah kualitas air masih dalam kisaran parameter yang normal dimana ikan lele dapat hidup dan tumbuh.

Pengukuran dilakukan setiap pagi hari dan sore hari. Sedangkan parameter yang diukur adalah suhu, oksigen terlarut (DO), dan pH.

3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang 6 kali.

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian, meliputi :

1. Perlakuan uji aktivitas antibakteri secara *in vitro*, yang terdiri atas :

Perlakuan A = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dosis 0 g

Perlakuan B = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dosis 1 g

Perlakuan C = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dosis 2 g

Perlakuan D = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dosis 3 g

2. Perlakuan uji aktivitas antibakteri secara *in vivo*, yang terdiri atas :

Perlakuan A = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dosis 0 g

Perlakuan B = antibiotik Tetrasiklin dosis 10 mg/L

Perlakuan C = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dengan dosis 10 mg/l

Perlakuan D = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dengan dosis 20 mg/l

Perlakuan E = ekstrak polar daun *Psidium guajava* dengan dosis 30 mg/l

Variabel penelitian yang diamati adalah :

a. Variabel bebas : Dosis antibakteri dari ekstrak polar daun *Psidium guajava* yang berbeda

b. Variabel tergantung :

1. Zona terang pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* (secara *in vitro*)

2. Perbaikan kondisi *Clarias gariepinus* setelah diuji tantang dengan *Aeromonas hydrophila* (Uji aktivitas antibakteri secara *in vivo*)
- c. Variabel kontrol : suhu, pH dan oksigen terlarut (DO).

3.4. Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan pada setiap parameter yang diamati, dianalisis dengan *Analysis of Varian* (ANOVA) satu arah dengan tingkat kepercayaan 95 %. Apabila uji berbeda nyata atau sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95 % untuk menentukan perbedaan antar perlakuan (Gaspersz, 1991).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Uji antibakteri ekstrak polar daun *Psidium guajava* secara *in vitro*

Daun jambu biji (*P. guajava*) telah diketahui memiliki beberapa senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri, antiviral dan antioksidan (Direkbusarakom, 2004; Qian He dan Venant, 2004; Razak dan Rahim, 2003; Angka, *et al.*, 2002; G.D. Lutterodt, *et al.*, 1999). Daun jambu biji (*P. guajava*) banyak mengandung *flavonoid*. Flavonoid inilah yang bersifat sebagai antibakteri. Menurut Qian He dan Venant (2004), salah satu golongan flavonoid terbanyak dalam daun *P. guajava* adalah *quercetin*. Senyawa flavonoid umumnya larut dalam pelarut polar. Adanya gula yang terikat pada flavonoid (*glikon flavonoid*) menyebabkan flavonoid tersebut bersifat polar dan lebih mudah larut dalam air, sehingga dalam ekstraksi daun jambu biji (*P. guajava*) digunakan pelarut polar. Etanol dan air merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi flavonoid (Achmad, 1986). Flavonoid mempunyai pengaruh menghambat dan menginduksi sintesis enzim sehingga dapat digunakan sebagai zat yang bersifat antibakteri maupun antimikrobial (Siswanto, 1997).

Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa daun jambu biji (*P. guajava*) memiliki kemampuan antibakteri terhadap *A. hydrophila*. Rata-rata panjang diameter zona hambatan tertinggi dihasilkan oleh ekstrak polar daun jambu biji dengan dosis 3 gram (dipekatkan menjadi 700 mg) pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh *A. hydrophila* terhadap pemberian ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*)

Perlakuan	Konsentrasi	Diameter rata-rata zona hambatan <i>A. hydrophila</i>
A	0 g (kontrol)	^a 0.00 mm
B	1 g (dipekatkan menjadi 350 mg)	^b 1.67 mm
C	2 g (dipekatkan menjadi 500 mg)	^c 2.17 mm
D	3 g (dipekatkan menjadi 700 mg)	^d 3.50 mm

Keterangan : Angka-angka pada kolom yang sama yang didampingi oleh huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda pada taraf kepercayaan 5%.

Data yang diperoleh dapat langsung diolah dalam analisa variansi (ANOVA) dan uji Duncan, dapat dilihat di lampiran 6. Dari uji Duncan dapat diketahui bahwa uji aktivitas antibakteri ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) dengan dosis 3 g (perlakuan D) menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap perlakuan A (kontrol), B (dosis 2 g), C (dosis 1 g) pada taraf kepercayaan 95%.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa dosis antibakteri dari ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) yang memiliki daya hambat paling tinggi secara *in vitro* adalah ekstrak polar dengan dosis 3 g. Sehingga dosis 3 g inilah yang dapat dilanjutkan untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak polar daun jambu biji terhadap infeksi *A. hydrophila* pada lele dumbo (*C. gariepinus*).



4.2. Infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap lele dumbo (*Clarias gariepinus*)

Hasil perhitungan regresi linier pada hubungan nilai absorbansi (*Optical density*) suspensi bakteri *A. hydrophila* dengan nilai logaritmik jumlah koloni bakteri per ml (log CFU/ml) didapatkan persamaan $y = 14,78 - 182,47x$. Sehingga dari persamaan ini dapat ditentukan kepadatan bakteri *A. hydrophila* sebesar 10^6 CFU/ml untuk diinfeksi pada lele dumbo (*C. gariepinus*) secara rendaman. Kurva baku *A. hydrophila* dan persamaan regresinya dapat dilihat di lampiran 5.

Infeksi *A. hydrophila* pada lele dumbo menyebabkan penyakit MAS (Cipriano, 2001). Pada penelitian ini, gejala klinis yang dapat diamati akibat infeksi *A. hydrophila* yaitu *hemorrhage* (pendarahan / *bleeding*) pada sirip, umumnya terjadi pendarahan pada sirip dorsal dan sirip pectoral. Sedangkan parameter gejala lain seperti pembengkakan abomen dan ulser (borok) tidak ditemukan. Hal ini diduga, *C. gariepinus* berada dalam tahap infeksi MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*) kronis. Menurut Cipriano (2001), MAS dibagi dalam tiga kondisi patologi infeksi, antara lain, akut, kronis dan infeksi laten (ikan terinfeksi penyakit namun tidak menunjukkan gejala sampai suatu kondisi lingkungan mendukung timbulnya penyakit). Bentuk infeksi tahap akut ditunjukkan oleh adanya gejala klinis berupa ikan yang terinfeksi mengalami *exophthalmia*, kulit memerah dan akumulasi fluida dalam jaringan atau organ sehingga terjadi pembengkakan abdomen (*edema*). Terjadinya infeksi ini sangat cepat dan kematian terjadi secara singkat setelah munculnya gejala tersebut. Ikan yang mengalami infeksi kronis, ditunjukkan dengan adanya gejala klinis berupa

munculnya *ulcer* pada bagian dermal (kulit), peradangan dan *hemorrhage* pada sirip. Jumlah lele yang menunjukkan *hemorrhage* pada sirip dapat dilihat di lampiran 2.

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri *septicemia*, yaitu bakteri yang dapat masuk ke dalam sistem sirkulasi darah dan mampu mengadakan perkembangbiakan dalam sirkulasi darah (Norton, 1981). *Aeromonas hydrophila* diketahui memiliki exotoxin berupa *hemolysin* (Cipriano, 2001). Hemolysin adalah substansi exotoxin yang dihasilkan oleh bakteri yang dapat mengganggu fungsi kerja membran sel darah merah atau sel-sel yang lain. Gangguan ini menyebabkan sel darah mengalami lisis dan melepaskan pigmen hemoglobin (Talaro, 2005). Ketika bakteri mengadakan penetrasi pada membran sel inang, exotoxin berfungsi mengikat reseptor pada membran sel inang dan memecah ikatan membran phospholipidnya.

Menurut Talaro (2005), ketika bakteri gram negatif menyebabkan infeksi, bakteri pada akhirnya lisis karena peningkatan jumlah bakteri pada jaringan atau sel-sel yang terinfeksi dan persaingan nutrisi. Pada saat mengalami lisis, endotoxin berupa molekul-molekul LPS pada dinding sel bakteri terurai dan dilepaskan ke dalam bagian yang terinfeksi atau sirkulasi darah (Talaro, 2005; Atlas, 1997). Molekul LPS kemudian berikatan dengan LPS *binding protein* pada reseptor sel inang sehingga menjadi molekul LPS – LPS *binding complex* dan berinteraksi dengan reseptor CD₁₄ pada monosit dan macrophage serta dengan reseptor lainnya pada sel-sel endothelium lele dumbo. Teraktivasinya monosit dan macrophage memicu sekresi *cytokine* (IL – 1, IL – 6, IL – 8, TNF α , dan platelet),

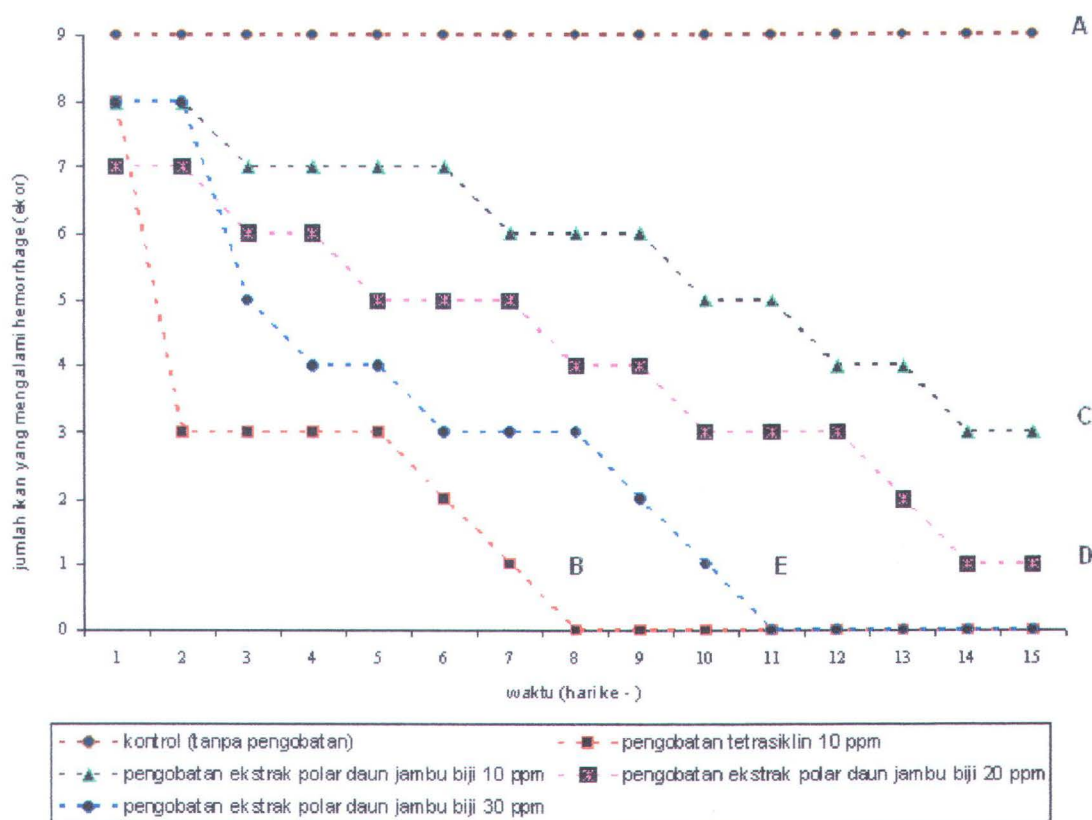
menstimulasi produksi *prostaglandin* dan *leukotrin* serta memicu terjadinya koagulasi darah secara bertahap. Koagulasi darah ini membentuk bekuan-bekuan darah yang tersebar di dalam sistem vaskular (*intravascular coagulation*) sehingga menghambat aliran darah secara normal dalam sistem sirkulasi darah. Akibatnya, terjadi kerusakan pada sel-sel endothelium dan darah mengalir keluar dari pembuluh darah sehingga terjadi *hemorrhage* (Atlas, 1997).

Mekanisme infeksi bakteri *A. hydrophila* pada lele dumbo dalam penelitian ini adalah melalui rendaman air yang menjadi media hidup bakteri. Bakteri *A. hydrophila* yang berada dalam air masuk secara langsung tertelan oleh mulut atau melalui insang dan kulit yang terluka (akibat bersentuhan dengan ikan lain atau gesekan dengan permukaan bak). Kemudian bakteri berkembang biak dalam sistem pencernaan atau pada bagian invasi mikrobial (*invasion site*) dan menyebar ke seluruh tubuh ikan melalui sistem peredaran darah (*septicemia*) dan menginvasi beberapa organ penting seperti liver, limpa dan ginjal. Periode inkubasi bakteri antara awal terjadinya infeksi dan munculnya gejala-gejala penyakit tergantung pada temperatur lingkungan dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi terjadinya penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*). Infeksi tahap akut terjadi pada 4 – 10 hari setelah infeksi. Sedangkan infeksi tahap sub akut atau kronik berkembang pada waktu yang lebih lama lagi (Post, 1983).

4.3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak polar daun jambu biji secara *in vivo*

Setelah dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* secara rendaman selama 60 menit, satu hari kemudian dilakukan pengobatan dengan ekstrak polar

daun jambu biji dengan dosis 10, 20 dan 30 mg/l dan antibiotik tetrasiklin dosis 10 mg/l sebagai pembanding. Pengobatan dilakukan selama 5 hari kemudian dilakukan pengamatan sampai 15 hari. Hasil penelitian menunjukkan jumlah lele yang mengalami hemorrhage pada sirip setelah dipapar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Hasil pengamatan hemorrhage pada sirip ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) setelah diinfeksi dengan *A. hydrophila* 10^6 CFU/ml dan pengobatan

Keadaan lele dumbo yang terserang bakteri *A. hydrophila* pada hari pertama pengobatan menunjukkan hemorrhage pada sirip, hampir pada semua perlakuan. Pada perlakuan A (kontrol / tanpa pengobatan), ditemukan hemorrhage pada sirip pada 9 ekor lele dumbo, sedangkan pada perlakuan B (pengobatan

tetrasiklin 10 ppm), C (pengobatan ekstrak polar daun jambu biji 10 ppm), dan E (pengobatan ekstrak polar daun jambu biji 30 ppm) ditemukan pada 8 ekor lele dumbo, tetapi pada perlakuan D (pengobatan ekstrak polar daun jambu biji 20 ppm), hanya 7 ekor. Menurut Cipriano (2001), keganasan penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*) pada tiap individu berbeda meskipun masih berada dalam satu spesies. Hal ini disebabkan perbedaan kondisi fisiologis tubuh inang dan tingkat resistensi tubuh yang berbeda dalam satu populasi akibat perbedaan genetik tiap-tiap individu.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak polar daun jambu biji menunjukkan perubahan gejala klinis hemorrhage pada sirip terjadi pada hari kedua pengobatan, yang ditunjukkan oleh adanya penurunan jumlah lele yang menunjukkan hemorrhage pada sirip. Pengobatan dengan ekstrak polar daun jambu biji 30 ppm menunjukkan perubahan pada hari ketiga, dari 8 ekor menjadi 5 ekor lele dumbo yang mengalami hemorrhage pada sirip. Hal ini diduga waktu paruh ekstrak polar daun jambu biji dalam tubuh ikan sekitar tiga hari. Sedangkan pengobatan dengan tetrasiklin menunjukkan perubahan secara drastis yaitu pada hari kedua pengobatan, hanya 3 ekor lele dumbo yang mengalami hemorrhage pada sirip. Menurut Herwig (1979), waktu paruh tetrasiklin dalam tubuh ikan relatif singkat, yaitu dua hari. Sehingga kadar obat dalam ikan setelah dua hari cepat menurun.

Perlakuan E (ekstrak polar daun jambu biji dengan dosis 30 mg/l) memiliki aktivitas penyembuhan lebih baik dibandingkan perlakuan ekstrak polar daun jambu biji dosis lainnya (perlakuan C dan D). Hal ini dapat dilihat pada hari terakhir pengobatan (hari ke - 5), jumlah lele dumbo yang menunjukkan

hemorrhage pada sirip menurun dari 8 ekor (pada hari pertama) menjadi 4 ekor. Hal ini berarti ada 4 ekor yang bebas infeksi *A. hydrophila*. Sedangkan pada perlakuan C, perubahan terjadi dari 8 ekor yang menunjukkan hemorrhage pada sirip menjadi 7 ekor saja. Begitu juga pada perlakuan D, dari 7 ekor yang menunjukkan hemorrhage pada sirip, pada hari ke – 5 pengobatan hanya 2 ekor yang menunjukkan perubahan (tidak ditemukan gejala klinis).

Senyawa bioaktif dalam daun jambu biji (*P. guajava*) yang dilarutkan dengan etanol merupakan senyawa yang bersifat polar. Salah satu senyawa bioaktif yang bersifat polar dalam daun jambu biji (*P. guajava*) dan banyak digunakan untuk pengobatan adalah *flavonoid*, diantaranya yang terpenting adalah *quercetin*, flavonoid golongan flavonol, yang dapat dilarutkan dengan pelarut polar. Flavonoid dilihat dari struktur kimianya merupakan senyawa golongan fenol (Harborne, 1994). Flavonoid berperan sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antivirus (Oteiza, *et al.*, 2005). Mekanisme pengobatan oleh ekstrak polar daun jambu biji terhadap hemorrhage pada sirip ikan lele dumbo merupakan aktivitas penghambatan senyawa *flavonoid* terhadap endotoksin yang dilepaskan oleh bakteri. Gugus hidroksil pada flavonoid berikatan dengan reseptor CD14 pada membran sel inang (lele dumbo) sehingga mencegah terjadinya ikatan antara endotoksin (molekul LPS – LPS *binding complex*) dengan reseptor CD14 sel endothelium, macrophage, monosit dan sel-sel leukosit inang lainnya. Adanya ikatan flavonoid pada reseptor CD14 memungkinkan flavonoid terpecah dan berubah menjadi struktur karbon yang lebih sederhana sehingga molekul ini dapat masuk ke dalam sel inang dengan lebih mudah (Oteiza, *et al.*, 2005).

Mekanisme penghambatan bakteri hidup oleh senyawa golongan fenol, dalam hal ini flavonoid, adalah melalui proses denaturasi protein (Madigan *et al* (1997). Mekanisme penghambatan tersebut mencegah dilepaskannya eksotoksin oleh sel bakteri. Denaturasi protein awalnya terjadi pada dinding sel yang menyebabkan dinding sel rusak. Rusaknya dinding sel berupa bentuk sel menjadi tidak normal sehingga memudahkan senyawa golongan fenol masuk ke membran sel dan merusak struktur membran sel. Menurut Kimball (1992), denaturasi protein diakibatkan oleh ikatan hidroksil yang terdapat dalam senyawa *flavonoid* berikatan dengan bagian hidrofilik dari membran sel bakteri sehingga terjadi gangguan atau hambatan pada sistem transpor membran sel (*protonmotive force*). Kerusakan pada membran sel menyebabkan membran tidak dapat mengatur fungsi *selective permeable* membran, sehingga juga mempengaruhi mekanisme kerja beberapa enzim. Kondisi ini mengakibatkan terhambatnya pembelahan dan pertumbuhan sel bakteri atau bahkan sel mengalami lisis dan mati (Madigan *et al.*, 1997).

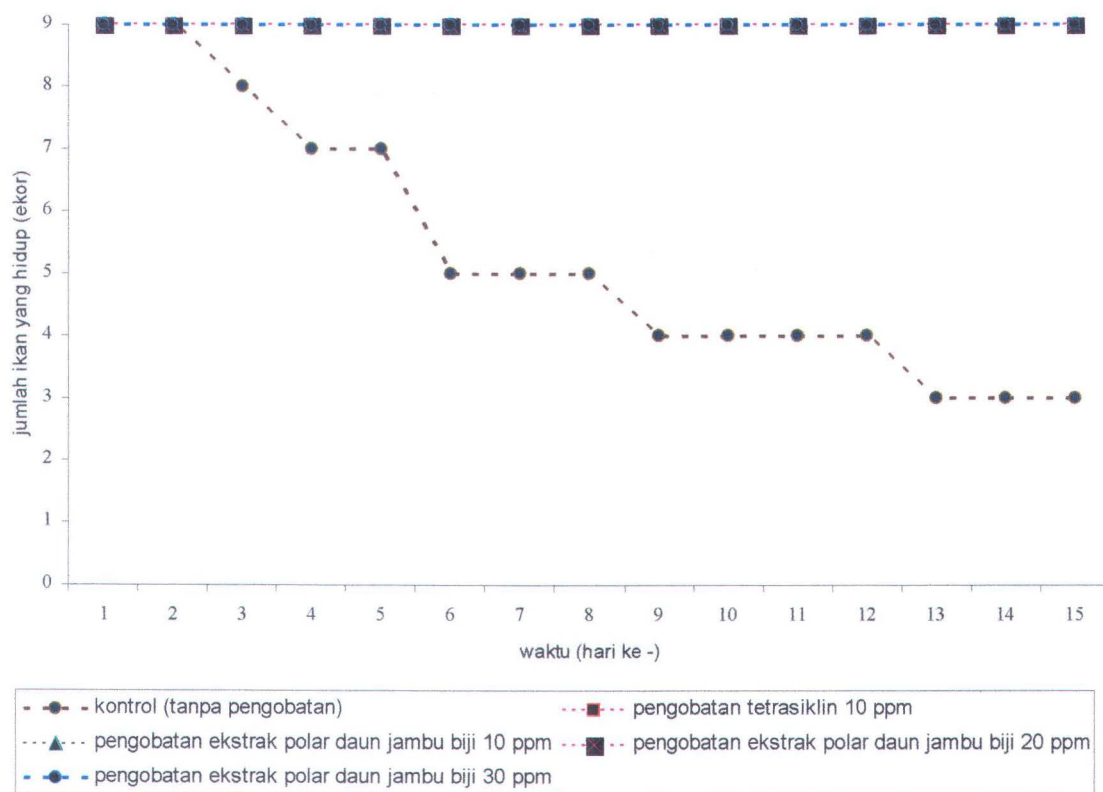
Berbeda halnya dengan tetrasiklin. Tetrasiklin merupakan salah satu jenis antibiotika yang bersifat *bakteriostatik* dan memiliki spektrum antimikrobia yang sangat luas dan fleksibel, yakni dapat digunakan pada bakteri, rickettsia dan *Chlamydia* sp. Tetrasiklin mampu mengikat pada subunit 30S dari ribosom bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara menghambat, memblokir atau menghentikan sintesis protein yang diadakan oleh bakteri. Tetrasiklin memblokir sintesis protein dengan menghalangi pelekatan tRNA-aminoasil pada sisi akseptor A (*the A acceptor site*) saat terjadinya translasi dan terkonsentrasi di ribosom

sehingga tidak mudah meninggalkan sel. Dengan demikian, tetrasiklin menghalangi penambahan asam amino baru pada rantai peptida yang sedang terbentuk (Talaro, 2005; Atlas, 1997; Brooks, *et al.*, 1995).

Pengamatan terus dilakukan selama 15 hari sejak pengobatan. Berdasarkan penelitian Kamiso dan Triyanto (1996), tetrasiklin menunjukkan efektivitas penyembuhan selama 10 hari pengobatan terhadap lele dumbo yang terserang penyakit MAS. Pada penelitian ini, pengobatan dengan tetrasiklin menunjukkan efektivitas selama 8 hari, ditunjukkan pada hari ke – 8, tidak ditemukan satu pun lele dumbo yang menunjukkan hemorrhage pada sirip. Sedangkan pada perlakuan E (pemaparan ekstrak polar daun jambu biji dengan dosis 30 mg/l) menunjukkan aktivitas penyembuhan lebih cepat dibandingkan perlakuan C dan D, yaitu selama 11 hari, terjadi penurunan jumlah lele yang menunjukkan hemorrhage pada sirip dari 8 ekor (pada hari pertama) menjadi tidak ada sama sekali. Hal ini berarti antibakteri dari ekstrak polar daun jambu biji dengan dosis 30 mg/l menunjukkan efektivitas pengobatan lebih tinggi terhadap infeksi *A. hydrophila* dibandingkan antibakteri dari ekstrak polar daun jambu biji dengan dosis 10 mg/l dan 20 mg/l. Menurut Pelczar dan Chan (1988), faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas zat antimikrobia antara lain : (1) Jenis zat antimikrobia dan jenis mikroorganisme harus sesuai karena memiliki kerentanan yang berbeda-beda, (2) Semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobia akan semakin efektif, (3) Semakin banyak jumlah mikrobia, waktu untuk mengendalikan semakin lama, (4) Suhu yang optimal akan menaikkan efektivitas zat antimikrobia dan (5) Bahan organik asing, dapat menurunkan efektivitas zat antimikrobia. Berdasarkan hasil penelitian Pearse, *et*

al (1974), bahwa pengaruh obat-obatan terhadap ikan dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya, jenis obat, dosis, jenis ikan, jenis bakteri dan cara pengobatannya.

Hasil penelitian menunjukkan perlakuan dengan ekstrak polar daun jambu biji sebagai zat antibakteri tidak menyebabkan mortalitas pada lele dumbo sebagai hewan uji. Berbeda halnya dengan kontrol, terjadi mortalitas pada ikan lele dumbo, yaitu dari 9 ekor menjadi 3 ekor lele dumbo yang masih hidup pada akhir penelitian, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4. Jumlah ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang hidup setelah diinfeksi *A. hydrophila* 10^6 CFU/ml dan dilakukan pengobatan

Kematian yang terjadi pada hewan kontrol menunjukkan bahwa infeksi *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian bila tidak segera ditanggulangi. Pada Gambar 4 dapat dilihat kematian akibat infeksi bakteri tersebut terjadi pada hari ketiga setelah infeksi dilakukan.

Hasil pengukuran suhu, ternyata tidak berbeda antar perlakuan, jadi dapat diketahui kematian lele dumbo dari masing-masing perlakuan bukan karena suhu. Kisaran suhu air media pemeliharaan yang terukur antara 27,89° – 28,57° C. Kisaran suhu tersebut masih berada dalam kisaran suhu yang optimum untuk pertumbuhan ikan lele dumbo yaitu antara 25° - 29° C (Polling, *et al.*, 1988).

Pada penelitian ini, oksigen terlarut berkisar antara 5.22 – 5.96 ppm dan hasil dari analisa variansi ternyata oksigen terlarut pada tiap perlakuan tidak berbeda nyata. Sedangkan kisaran oksigen terlarut pada budidaya ikan lele dumbo, yaitu sebesar 3 – 5 ppm, bahkan lele dumbo mampu bertahan pada kondisi yang jelek sampai 0.3 ppm (Bruton, 1988).

Derajat keasaman (pH) air selama penelitian masih berada pada kisaran yang sesuai. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Bruton (1988) bahwa untuk dapat hidup dan tumbuh secara optimal ikan lele dumbo memerlukan pH berkisar antara 6,5 – 9. Data hasil pengukuran kualitas air dapat dilihat di lampiran 3.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* ekstrak polar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis 3 gram terhadap *Aeromonas hydrophila* menunjukkan rata-rata zona hambatan sebesar 3,5 mm.
2. Ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) dengan dosis 30 mg/l, yang diberikan secara rendaman tiap hari sekali selama 5 hari, lebih efektif dalam mengobati infeksi *A. hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dibandingkan ekstrak polar daun jambu biji (*P. guajava*) dosis 10 dan 20 mg/l dengan waktu penyembuhan 11 hari

5.2. Saran

Tahap pengambilan senyawa bioaktif pada penelitian ini hanya sampai pada tahap ekstraksi. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan agar diketahui senyawa aktif antibakteri yang lebih murni dalam daun jambu biji (*Psidium guajava*) untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelrahim, S. I. 2002. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. *J. Fitoterapia*, 73 (7) : 713-715.
- Achmad, S. A. 1986. *Kimia organik bahan alam*. Karunia. Jakarta.
- Adams, S. M. 1990. *Biological indicators of stress in fish*. American Fisheries Society. Maryland, USA.
- Andriani, N. 2002. Pengaruh pemberian fraksi polar dan non polar daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap imago kutu beras *Sitophilus oryzae* L. Skripsi UNAIR. Surabaya.
- Angka, S.L., Yulita, I. & Utama, I.K.J. 2002. Aktivitas antibakteri dari fitofarmaka secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo. *J. Mikrobiologi Indonesia*, 7 (2) : 47 – 50.
- Atlas, R. M. 1997. *Principles of Microbiology*. Wm. C. Brown Publishers. Iowa, USA.
- Bappenas. 2000. *Budidaya ikan lele (Clarias)*. Editor : Prihatman, K. Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Jakarta.
- Berkeley, R.C.W. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA.
- Britz, P.J. & Hecht, T. 1989. Effects of salinity on growth and survival of African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 5 (4) : 194-202.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., Ornston, L. N. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Bruton, M.N. 1979. The food and feeding behaviour of *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae) in Lake Sibaya, South Africa, with emphasis on its role as a predator of cichlids. *Transactions of the Zoological Society of London*, 35 (1): 47- 114.
- Bruton, M. N. 1988. *Systematics and biology clariid catfish*. South African National Scientific Programmes Report No. 153. CSIR, Pretoria: 1-26 pages.

- Camus, A.C., R.M. Durborow, W.G. Hemstreet, R.L. Thurne & J.P. Hawks. 1998. *Aeromonas bacterial infections – motile aeromonad septicemia*. Southern Regional Agriculture Center Publication No. 478, September 1998.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. *Fish Disease Leaflet 68*. United States Department Of The Interior Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research. Washington, D. C., USA.
- Clay, D. 1979. Population biology, growth and feeding of African catfish (*Clarias gariepinus*) with special reference to juveniles and their importance in fish culture. *Archiv fur Hydrobiologie*, 87 (4) : 453- 482.
- Direkbusarakom, S. 2004. Application of medinal herbs to aquaculture in Asia. *Walailak J Sci & Tech*, 1 (1) : 7 – 14.
- Enny, N. 2005. *Uji aktivitas antibakteri sari buah majapahit (Crescentia cujete) terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Eschericia coli*. Skripsi FMIPA ITS. Surabaya.
- Faktorovich, K. A. 1969. Histological changes in the liver, kidneys, skin and brain of fish sick with red rot. *Fish Disease Leaflet 68*. United States Department Of The Interior Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research. Washington, D. C., USA.
- Francis-Floyd, R. 2002. *Aeromonas Infections*. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Florida. Diakses melalui internet, <http://edis.ifas.ufl.edu>, tgl. 22 Agustus 2005, pukul 2.58 WIB.
- G.D. Lutterodt, A. Ismail, R.H. Basheer, & H. Mohd. Baharudin. 1999. Antimicrobial effects of psidium guajava extract as one mechanism of its antidiarrhoeal action. *Malaysian J. of Med. Sc.*, 6 (2) : 17 – 20.
- Gasperz, V. 1991. *Metode perancangan percobaan*. Armico. Bandung.
- Grondel, J.L. & H.J.A.M. Boesten. 1982. Dalam : Kamiso, H.N. & Triyanto. 1996. Pengaruh tetrasiklin terhadap kerentanan oleh serangan MAS, pertumbuhan dan daya tetas telur lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *J. Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 1 (1) : 63 – 68.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode fitokimia : penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Diterjemahkan oleh : Padmawinata, K. & Soediro, I. ITB. Bandung.
- Harborne, J.B. 1994. *The Flavonoids*. Chapman dan Hall. London, England.

- Hartono, A.H.S. 2001. *Pembudidayaan ikan lele lokal dan ikan lele dumbo secara tradisional*. C.V. Gunung Mas. Pekalongan.
- Herwig, N. 1979. *Handbook of drug and chemical used in the treatment of fish disease*. Charles C. Thomas Published. Springfield, USA.
- Kamiso, H.N. & Triyanto. 1996. Pengaruh tetrasiklin terhadap kerentanan oleh serangan penyakit MAS, pertumbuhan dan daya tetas telur lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *J. Perikanan Universitas Gadjah Mada*, I (1) : 63 – 68.
- Kamiso, H.N., Triyanto & Hartati, S. 1997a. Efikasi vaksin dan kemangkusan tetrasiklin untuk penyakit MAS : pada pendederan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *J. Perikanan Universitas Gadjah Mada*, I (2) : 25 – 30.
- Kamiso, H.N., Triyanto & Hartati, S. 1997b. Efikasi vaksin dan kemangkusan tetrasiklin untuk penyakit MAS : pada pembesaran lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *J. Perikanan Universitas Gadjah Mada*, I (2) : 31 – 36.
- Kimball, J. W. 1992. *Biology*. 5th Ed. Erlangga. Jakarta.
- Liu, H.N. 1988. In : He Qian & Venant, N. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *J. of Zhejiang University SCIENCE*, 5(6) : 676-683.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, & J. Parker. 1997. *Brock : biology of microorganisms*. 8th Ed. Prentice Hall International, Inc. New Jersey.
- Meilanny, A. M. 2004. Pengaruh pemberian dosis vaksin *Aeromonas hydrophila* yang berbeda terhadap kelangsungan hidup benih ikan nila merah (*Oerochromis* sp) dengan uji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV*, diadakan pada tanggal 18 – 19 Mei 2004. Purwokerto.
- Morton, J. 1987. Guava. In : J. F. Morton. 1987. *Fruits of warm climates*. U.S. Department of Agriculture, Forest Service. Miami.
- Norton, C. F. 1981. *Microbiology*. Addison – Wesley Publishing Company, Inc. Philippines.
- Nurhayati, A.P.D. 2003. *Pengaruh interval waktu booster vaksin debris dan sitoplasma Aeromonas hydrophila terhadap status hematologis dan respon imun pada lele dumbo (Clarias gariepinus)*. Tesis UGM. Yogyakarta.

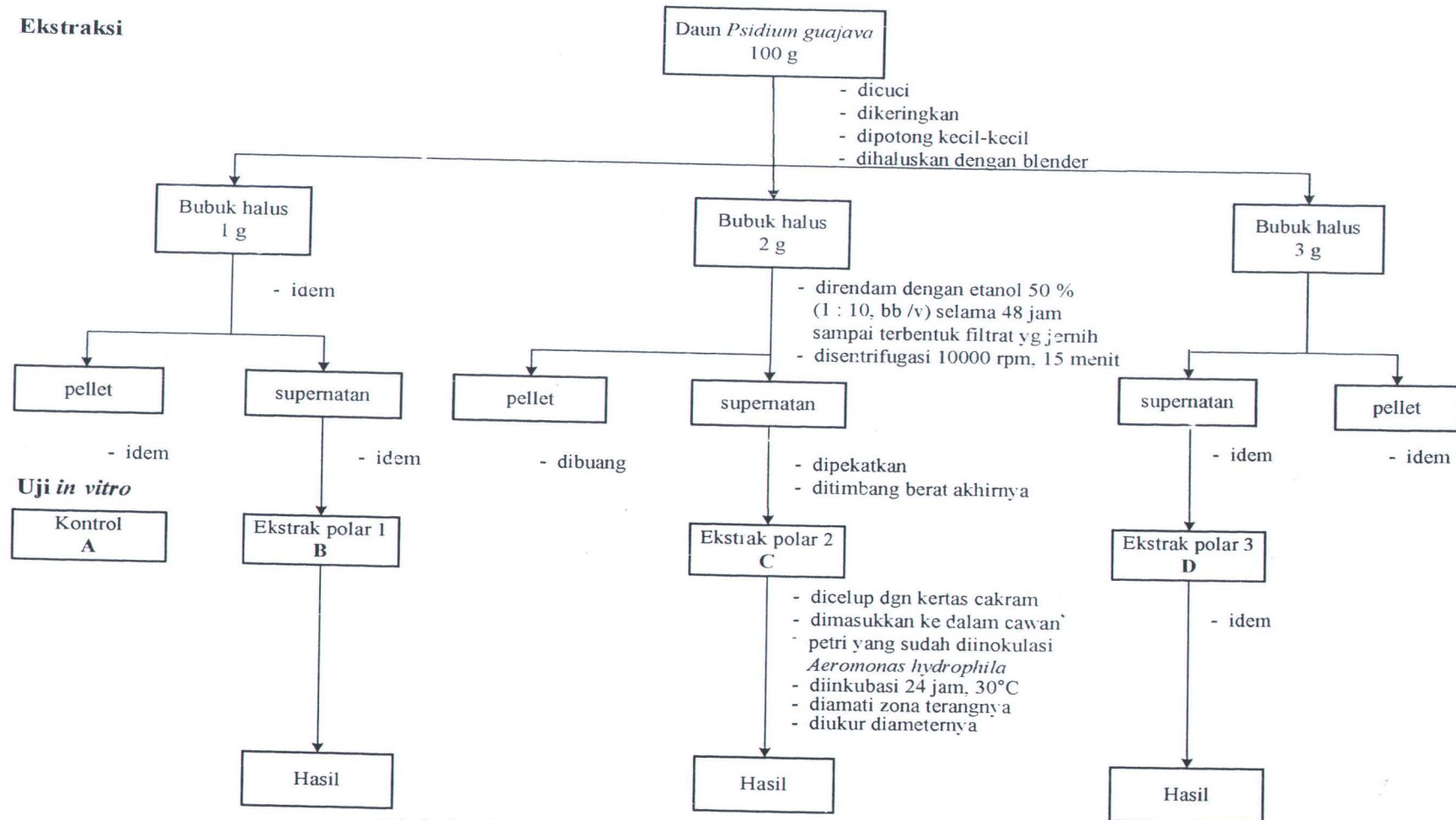
- Okuda, T., Yoshida, T., Hatano, T., Yakazi, K., & Ashida, M. 1982. In : He Qian & Venant, N. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *J. of Zhejiang University SCIENCE*, 5 (6) : 676-683.
- Oteiza, P. I., Erlejman, A. G., Verstraeten, S. V., Keen, C. L., & Fraga, C. G. 2005. Flavonoid – membrane interactions : a protective role of flavonoids at the membrane surface?. *J. Clinical & Developmental Immunology*, Maret 2005; 12 (1) : 19 – 25.
- Paniagua, C.; Rivero, O.; Anguita, J. & Naharro, G. 1990. Pathogenicity factors and virulence for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) or motile *Aeromonas* spp. isolated from a river. *Fish Disease Leaflet* 68. United States Department Of The Interior Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research. Washington, D. C., USA.
- Pearse, L., R.S.V. Pullin, D.A. Conroy, & D. McGregor. 1974. Observations on the use of furanace for control of *Vibrio* disease in marine flatfish. *Aquaculture*, 3 : 295 – 302.
- Pelczar, M. J. & Chan. 1988. *Dasar-dasar mikrobiologi* 2. UI Press. Jakarta.
- Polling, L.; H. J. Schoonbee; J. F. Prinsloo & A. J. B. Wiid. 1988. The evaluation of live feed in the early larval growth of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). *J. Water SA*; 14 (1):19 - 24.
- Post, G. 1983. *Textbook of fish health*. T. F. H. Publications, Inc. New York, USA.
- Qian He & Venant, N. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *J. of Zhejiang University SCIENCE*, 5(6) : 676-683.
- Quick, A.J.R. & Bruton, M.N. 1984. Age and growth of *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae) in the P.K. le Roux Dam, South Africa. *South African J. of Zoology*. 19 (1): 37- 45.
- Razak, F. A. & Rahim, Z. H. A. 2003. The anti-adherence effect of *Piper betle* and *Psidium guajava* on the adhesion of early settlers in dental plaque to saliva-coated glass surfaces. *Journal of Oral Science*, Vol. 45, No. 4. 201 – 206 pages.
- Rijkers, G.T., R. van Dostrom & W.B. van Muiswinkel. 1981. Dalam : Kamiso, H.N. & Triyanto. 1996. Pengaruh tetrasiklin terhadap kerentanan oleh serangan penyakit MAS, pertumbuhan dan daya tetas telur lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *J. Perikanan Universitas Gadjah Mada*. I (1) : 63 – 68.

- Ruslan, K., Soetarno, S. & Sastrodihardjo, S. 1989. *Insektisida dari produk alami*. PAU Bidang Ilmu Hayati ITB. Bandung.
- Ryandini, T. B. Suparyana & S. Priyanto. 2004. Sensitivitas *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* terhadap ekstrak polar kayu bangkirae. *Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV*, diadakan pada tanggal 18 – 19 Mei 2004. Purwokerto.
- Santoso, B. 1994. *Petunjuk praktis budidaya lele dumbo dan lokal*. Kanisius. Yogyakarta.
- Siswanto, Y. W. 1997. *Penanganan hasil panen tanaman obat komersial*. Trubus Agriwidya. Tawangmangu. Hal. 2 - 16.
- Skelton, P.H. & Teugels, G.G. 1992. Neotype description for the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (Pisces, Siluroidei, Clariidae). *Ichthyological Bulletin*. No. 56 : 7.
- Skelton, P.H. 1993. *A complete guide to the freshwater fishes of Southern Africa*. Southern Book Publishers : 388.
- Suyanto, S. R. 2004. *Budidaya ikan lele*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Talaro, K. P. 2005. *Foundations in microbiology*, 5th edition. McGraw Hill. New York.
- Teugels, G.G. 1986. A systematic revision of the African species of the genus *Clarias* (Pisces; Clariidae). *Ann. Mus. R. Afr. Centr.* 247 : 1-199.
- Thune, R.L., Stanley, L.A. & Cooper, R.K. 1993. Dalam : Angka, S.L., Yulita, I. & Utama, I.K.J. 2002. Aktivitas antibakteri dari fitofarmaka secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo. *J. Mikrobiologi Indonesia*. 7 (2) : 47 – 50.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. UGM Press. Yogyakarta.
- van der Waal, B.C.W. and Schoonbee, H. J. 1975. Age and growth studies of *Clarias gariepinus* (Clariidae) in the Transvaal, South Africa. *J. of Fish Biology*. 7 (2) : 227 - 233.
- van Steenis. 1990. *Flora*. Pradnya Paramita. Bandung.

Skema kerja uji aktivitas anti bakteri secara *in vitro*

Lampiran 1

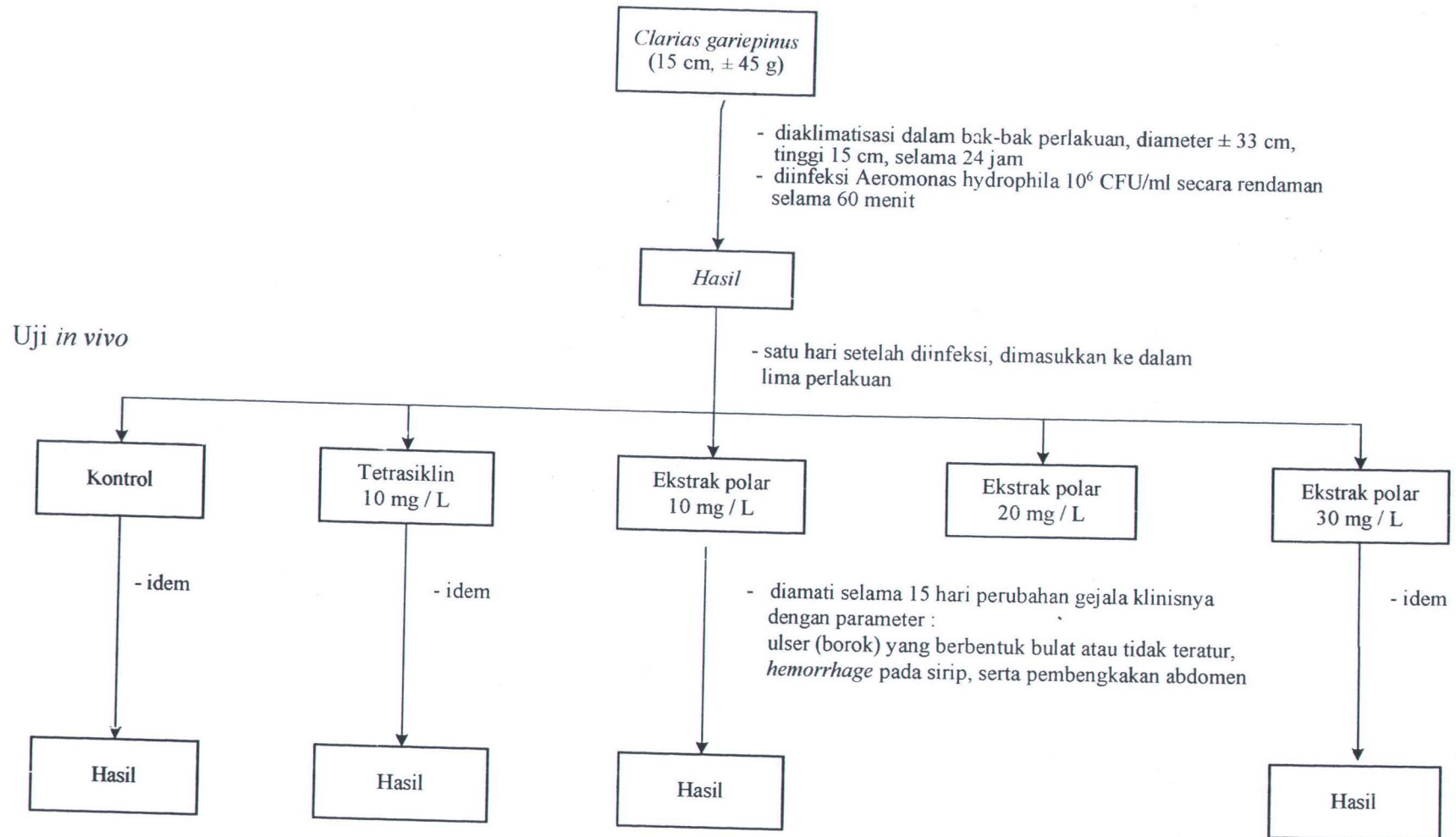
Ekstraksi



* dosis ekstrak polar dgn zona terang yg paling lebar digunakan untuk uji *in vivo*

Skema kerja uji aktivitas anti bakteri secara *in vivo*

Lampiran 1



Lampiran 2

Tabel 2. Jumlah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang menunjukkan gejala hemorrhage pada sirip dan jumlah mortalitas setelah diinfeksi *Aeromonas hydrophila* secara rendaman

Perlakuan	Hari ke -																													
	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15	
	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M
A	9	0	9	0	8	1	7	0	7	0	5	2	5	0	5	0	4	1	4	0	4	0	4	0	3	1	3	0	3	0
B	8	0	3	0	3	0	3	0	3	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	8	0	8	0	7	0	7	0	7	0	7	0	6	0	6	0	6	0	5	0	5	0	4	0	4	0	3	0	3	0
D	7	0	7	0	6	0	6	0	5	0	5	0	5	0	4	0	4	0	3	0	3	0	3	0	2	0	1	0	1	0
E	8	0	8	0	5	0	4	0	4	0	3	0	3	0	3	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

H : Jumlah ikan lele dumbo yang menunjukkan gejala hemorrhage pada sirip

M : Jumlah mortalitas ikan lele dumbo

A : kontrol

B : tetrasiklin 10 mg / l

C : ekstrak polar daun jambu biji 10 mg / l

D : ekstrak polar daun jambu biji 20 mg / l

E : ekstrak polar daun jambu biji 30 mg / l

Tabel 3. Data hasil pengukuran kualitas air tiap perlakuan

Lampiran 3

Hari ke	Suhu (° C)					pH					DO (ppm)				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
1	29.36	29.57	29.5	29.40	29.47	7.05	7.06	7.04	6.98	6.99	5.22	5.22	5.24	5.23	5.23
2	28.30	28.30	28.33	28.33	28.30	7.03	7.08	7.09	7.07	7.04	5.85	5.77	5.06	5.67	5.82
3	28.40	28.45	28.33	28.45	28.35	7.07	7.08	7.05	7.06	7.05	5.65	5.54	5.87	5.56	5.58
4	28.60	28.67	28.77	28.80	28.77	7.07	7.06	7.02	7.03	7.01	5.39	5.32	5.36	5.56	5.36
5	28.63	28.63	28.63	28.80	28.80	6.99	7.17	7.18	7.01	7.01	5.41	5.45	5.53	5.51	5.40
6	28.70	28.77	28.70	28.83	28.67	7.07	7.02	6.98	7.02	7.00	5.84	5.85	5.91	5.90	5.96
7	28.60	28.75	28.45	28.66	28.57	7.10	7.11	7.05	7.04	7.05	5.56	5.34	5.24	5.25	5.45
8	28.45	28.60	28.33	28.34	28.44	7.08	7.09	7.11	7.05	7.06	5.35	5.44	5.36	5.25	5.44
9	28.54	28.35	28.34	28.33	28.22	7.09	7.06	7.01	6.98	6.99	5.26	5.46	5.66	5.43	5.23
10	28.34	28.55	28.33	28.30	28.32	7.10	7.06	7.08	7.05	7.20	5.34	5.44	5.71	5.36	5.43
11	28.60	28.65	28.46	28.67	28.70	7.05	6.90	6.99	6.98	7.01	5.39	5.47	5.38	5.46	5.24
12	27.99	27.89	27.99	27.89	27.90	7.03	7.15	7.09	7.12	7.13	5.44	5.06	5.33	5.08	5.25
13	28.06	28.08	28.10	28.09	28.12	7.08	6.97	6.98	6.99	7.09	5.43	5.21	5.36	5.38	5.24
14	28.37	28.33	28.35	28.30	28.36	7.06	7.08	7.01	7.14	7.15	5.49	5.67	5.46	5.39	5.65
15	28.03	27.99	28.34	28.30	28.15	7.10	7.11	7.09	7.05	7.10	5.41	5.48	5.43	5.37	5.38

Lampiran 4



Gambar 5. Simplisia daun Jambu biji (*Psidium guajava*). Tahap pertama sebelum dilakukan ekstraksi

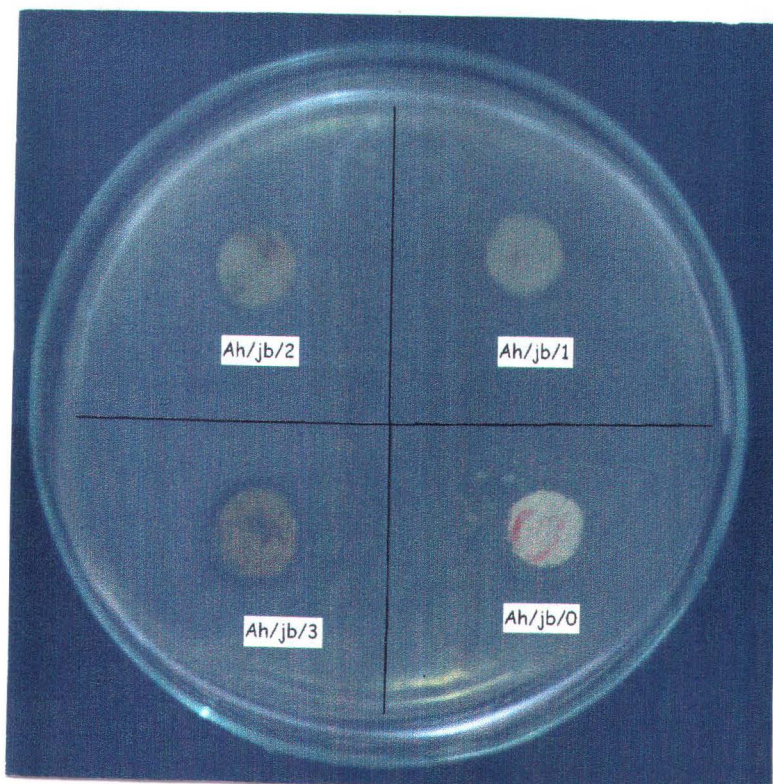


Gambar 6. Bubuk halus simplisia daun Jambu biji (*Psidium guajava*)

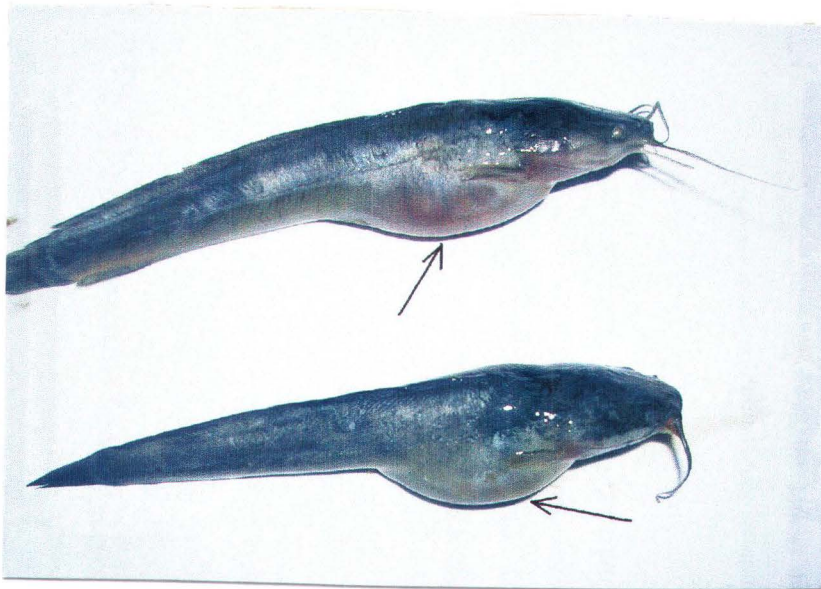




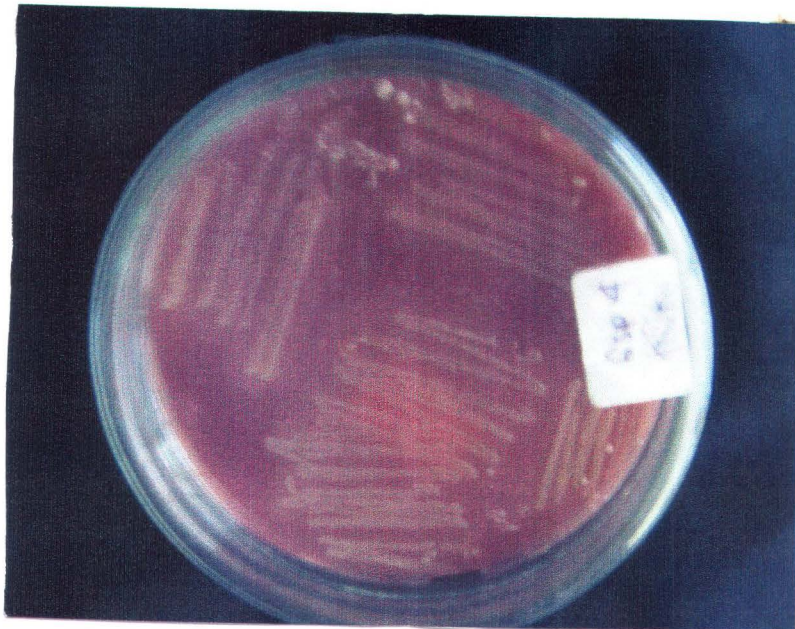
Gambar 7. Ekstrak polar daun jambu biji (*Psidium guajava*), dosis 1, 2, dan 3 g



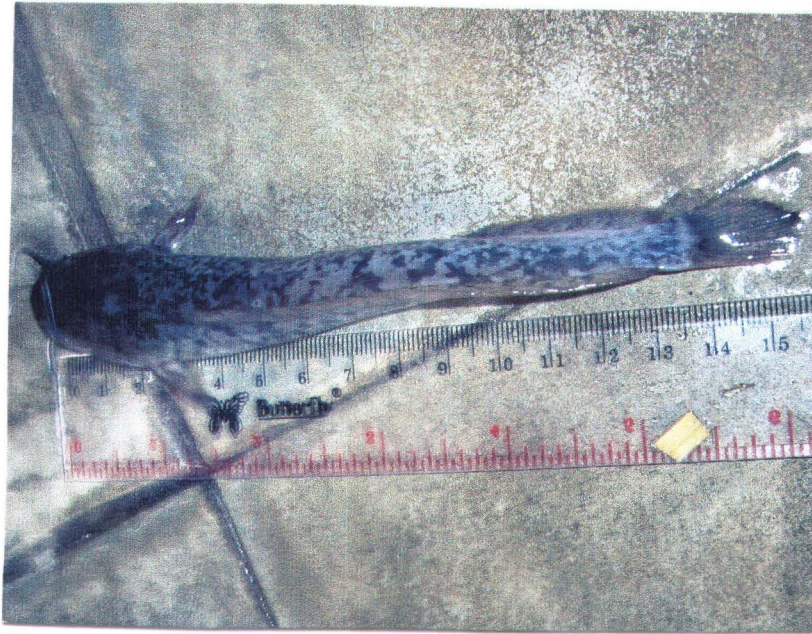
Gambar 8. Zona terang pada *Aeromonas hydrophila* setelah diberi ekstrak polar daun *Psidium guajava* dosis 1 g (Ah/jb/1), 2 g (Ah/jb/2), dan 3 g (Ah/jb/3) serta tanpa pemberian ekstrak / 0 g (Ah/jb/0)



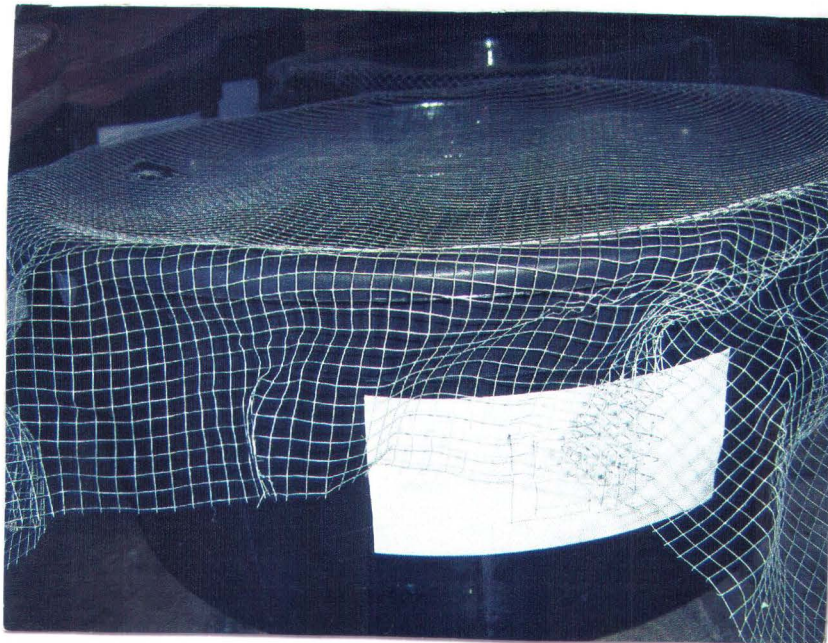
Gambar 9. Lele dumbo (*C. gariepinus*) ukuran panjang total 8 cm yang mengalami edema (ditunjukkan dengan tanda panah), akibat direinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila*



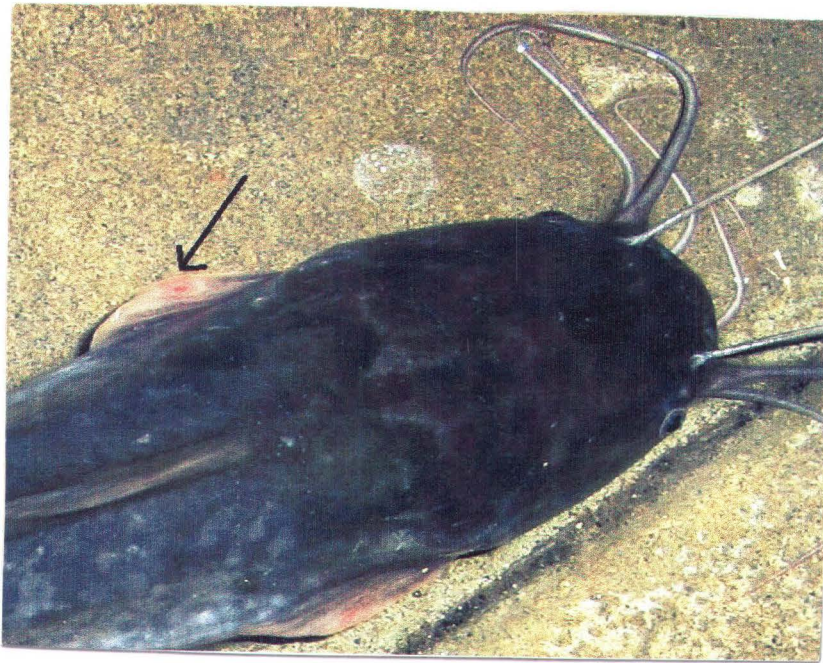
Gambar 10. Isolasi bakteri *A. hydrophila* hasil reinfeksi pada lele dumbo ukuran 8 cm yang ditanam pada medium GSP



Gambar 11. Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sehat dengan panjang total 15,5 cm



Gambar 12. Uji aktivitas antibakteri ekstrak polar daun *P. guajava* secara *in vivo*

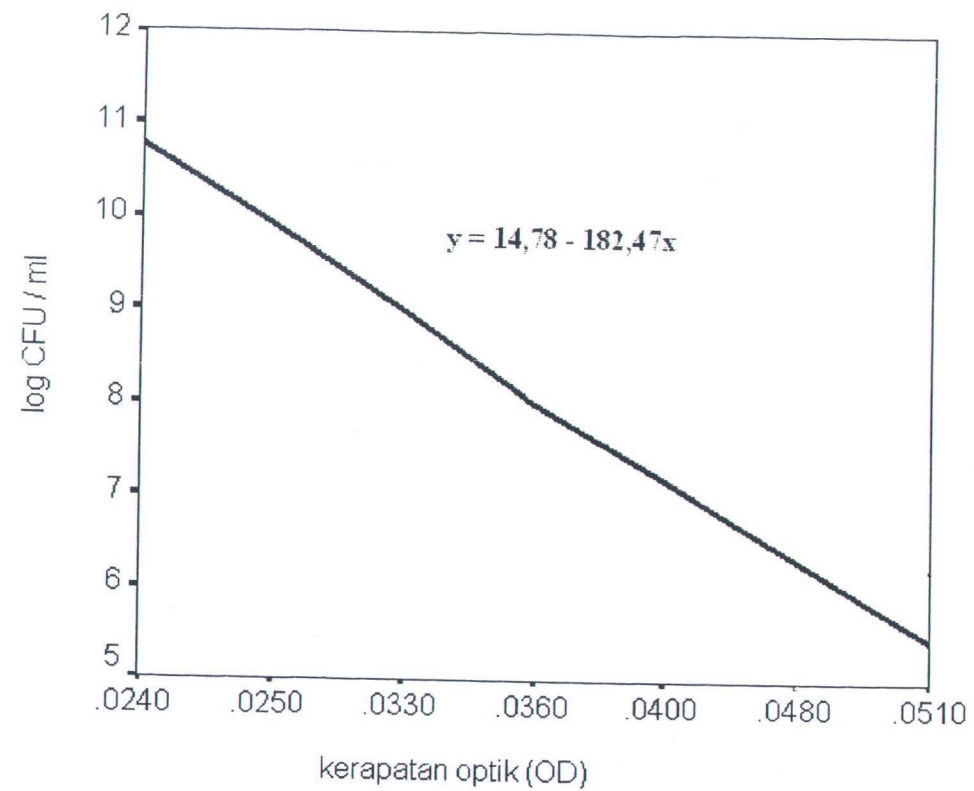


Gambar 13. *Clarias gariepinus* yang mengalami *hemorrhage* pada sirip pectoral (ditunjukkan dengan tanda panah), akibat infeksi *A. hydrophila*



Gambar 14. *Clarias gariepinus* yang mengalami *hemorrhage* pada sirip dorsalis (ditunjukkan dengan tanda panah), akibat infeksi *A. hydrophila*

Kurva Baku *Aeromonas hydrophila*



Oneway

Lampiran 6

Analisa Variansi dan Uji Duncan Hasil *Uji in vitro*

Descriptives

HASIL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 gram	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
1 gram	6	1.6667	.68313	.27889	.9498	2.3836	1.00	2.50
2 gram	6	2.1667	.25820	.10541	1.8957	2.4376	2.00	2.50
3 gram	6	3.5000	.00000	.00000	3.5000	3.5000	3.50	3.50
Total	24	1.8333	1.32424	.27031	1.2742	2.3925	.00	3.50

Test of Homogeneity of Variances

HASIL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
15.952	3	20	.000

ANOVA
HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.667	3	12.556	94.167	.000
Within Groups	2.667	20	.133		
Total	40.333	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

HASIL
Duncan

DOSIS	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
0 gram	6	.0000			
1 gram	6		1.6667		
2 gram	6			2.1667	
3 gram	6				3.5000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

